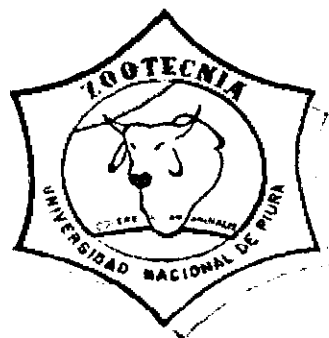




UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**“SEROPREVALENCIA DE EHRlichiosis EN *Canis lupus familiaris* DE LA JURISDICCión DE CESAMICA DEL
DISTRITO DE CASTILLA – PIURA”**

PRESENTADA POR:

Bach. ISMAEL RODRIGO ZAPATA ATOCHE

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO**

PIURA - PERÚ

2014

7177
ZAP



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

**“SEROPREVALENCIA DE EHRlichiosis EN *Canis lupus familiaris*
DE LA JURISDICCión DE CESAMICA DEL DISTRITO DE
CASTILLA – PIURA”**

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO**

Bach. ISMAEL RODRIGO ZAPATA ATOCHE

TESISTA

Med. Vet. ROSARIO NELLY ELERA OJEDA, Dra.

PATROCINADORA

Ing. Zoot. LUCIANO RONDOY INFANTE, Mg. Sc.

CO-PATROCINADOR



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

**“SEROPREVALENCIA DE EHRlichiosis EN *Canis lupus familiaris*
DE LA JURISDICCión DE CESAMICA DEL DISTRITO DE
CASTILLA – PIURA”**

Tesis revisada y aprobada por el Jurado

**Med. Vet. HABACUC CELIS ANTICONA, Mg. Sc.
PRESIDENTE**

**Med. Vet. JOAQUIN TANTALEÁN ODAR, Mg.
VOCAL**

**Med. Vet. JUAN SÁNCHEZ ACOSTA Ms.
SECRETARIO**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE ZOOTECNIA
SECRETARIA ACADÉMICA



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

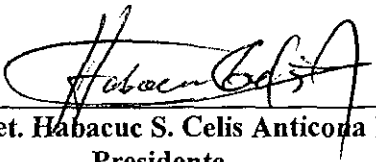
Los Miembros del Jurado que suscriben, se reunieron en acto académico para la sustentación de la tesis presentada por el Bachiller **ISMAEL RODRIGO ZAPATA ATOCHE**, denominada: **"DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE ERLICHIOSIS CANINA EN Canis lupus familiaris DE LA JURISDICCIÓN DE CESAMICA DEL DISTRITO DE CASTILLA – PIURA"**, para cumplir con el requisito académico para la obtención del Título Profesional de Médico Veterinario.


Teniendo en consideración los méritos del referido trabajo de investigación, así como los conocimientos demostrados por el sustentante, lo declaramos:

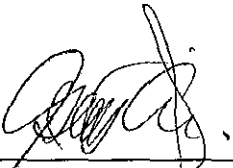
APROBADO

En consecuencia, queda en condición de ser considerado apto por el Consejo Universitario y recibir el título profesional de **Médico Veterinario**, de conformidad con lo estipulado en el Art. 175° del Estatuto General de la Universidad Nacional de Piura.

Castilla (Piura), 19 de mayo del 2014


Méd.Vet. Habacuc S. Celis Anticona Mg.Sc.
Presidente


Méd.Vet. Joaquín M. Tantaleán Odar.Mg.
Vocal


Med. Vet. Juan Sánchez Acosta. Ms.
Secretario

DEDICATORIA

Al Ser supremo por la existencia.

A mis padres y hermanos por su apoyo incondicional.

A mis asesores y a las personas cercanas que me apoyaron en todo momento.

AGRADECIMIENTO

A mis padres por siempre estar cuando los necesite, y me apoyaron en todo.

A mi asesora de tesis la Dra. Rosario Nelly Elera Ojeda por su apoyo incondicional y por ser guía en la realización de la tesis.

A la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional de Piura por facilitarme el uso de sus instalaciones para el procesamiento de muestras.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO	PÁG.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1. ANTECEDENTES	2
2.2. DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD.....	4
2.2.1. Agente etiológico.....	6
2.2.2. Ciclo biológico de <i>Ehrlichia canis</i>	8
2.2.3. Distribución	10
2.2.6. Transmisión	10
2.3. VECTOR.....	11
2.3.1. Ciclo biológico de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	12
2.4. PATOGENIA	15
2.5. SINTOMATOLOGÍA.....	15
2.5.1. Fase aguda	16
2.2.2.Fase subclínica.....	16
2.2.3. Fase crónica	16
2.6. LESIONES	20
2.7. DIAGNÓSTICO.....	20
2.7.1. Diagnóstico clínico	21
2.7.2. Diagnóstico de laboratorio.....	22
2.7.2.1. Métodos directos	22
2.7.2.2. Métodos indirectos	24
2.7.2.2.1. ELISA.....	26
2.7.3. Diagnóstico diferencial.....	27
2.8. TRATAMIENTO	28

2.8.1. Respuesta al tratamiento y pronóstico	31
2.9. PREVENCIÓN.....	32
III. MATERIAL Y MÉTODOS	33
3.1. LUGAR DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS Y PROCESAMIENTO.	33
3.2. ANIMALES EXPERIMENTALES (MATERIAL BIOLÓGICO).....	33
3.3. DURACIÓN DEL ESTUDIO	34
3.4. MATERIALES	34
3.4.1. Material y equipo de campo.....	34
3.4.2. Material y equipo de laboratorio.....	35
3.4.3. Material y equipo de oficina	35
3.5. METODOLOGÍA	35
3.5.1. Identificación del espécimen.....	35
3.5.2. Toma de muestra	35
3.5.3. Procesamiento de la muestra	36
3.5.4. Interpretación de resultados	36
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	38
3.6.1. Determinación de la prevalencia.....	38
3.6.2. Determinación del intervalo de confianza	38
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1. PREVALENCIA TOTAL.....	39
4.2. PREVALENCIA POR SECTORES.....	40
4.3. PREVALENCIA SEGÚN SEXO.....	41
4.4. PREVALENCIA SEGÚN EDAD	42
V. CONCLUSIÓN	43
VI. RECOMENDACIONES	44
VII. RESUMEN.....	45
VIII. BIBLIOGRAFÍA	47

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	PÁG.
1: Especies y características de <i>Ehrlichia sp</i>	5
2: Taxonomía de <i>Ehrlichia canis</i>	6
3: Situación actual del poder infectante para el perro y el hombre de las distintas especies de <i>Ehrlichia sp</i>	9
4: Tamaño de muestra de acuerdo a la población canina por sectores	34
5: Prevalencia de ehrlichiosis canina por sectores. 2014	41
6: Prevalencia de ehrlichiosis canina según sexo. 2014.....	41
7: Prevalencia de ehrlichiosis canina según edad. 2014.....	42
8: Análisis estadístico de prevalencia de ehrlichiosis canina por sectores	62
9: Análisis estadístico de prevalencia de ehrlichiosis canina por sexo	62
10: Análisis estadístico de prevalencia de ehrlichiosis canina por edades	62

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO	PÁG.
1. Prevalencia total de ehrlichiosis en la jurisdicción de "CESAMICA" - Piura	39

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁG.
1: Inclusión compatible con <i>Ehrlichia spp.</i> en el interior de una célula mononuclear en extensión sanguínea.....	6
2: Cultivo de <i>Ehrlichia spp.</i> Distintas formas evolutivas intracitoplasmáticas.....	8
3: Garrapata (<i>Rhipicephalus sanguineus</i>) repleta fijada a un perro	11
4: Ciclo biológico de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	13
5: Infestación masiva de garrapatas (<i>Rhipicephalus sanguineus</i>) en un perro.....	14
6: Epistaxis típica en un perro afectado de ehrlichiosis canina.....	17
7: Petequias y equimosis en un perro con ehrlichiosis crónica severa.....	19
8: Lesiones cutáneas en un caso de ehrlichiosis canina	19
9: Manifestaciones clínicas más frecuentes en la ehrlichiosis canina según fase de la enfermedad	20
10: Frotis sanguíneo. Cuerpos de inclusión compatibles con <i>Ehrlichia spp.</i> En el interior de una célula mononuclear	23
11: Frotis médula ósea. Mórula de <i>Ehrlichia canis</i> en el interior de una célula mononuclear	23
12: Sobre un porta se realiza toda la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI).	25
13: Células infectadas experimentalmente con <i>Ehrlichia sp.</i> , con la técnica de IFI.....	25
14: Coloración roja y cuerpos de inclusión de color verde brillante en una IFI positiva....	26
15: Coloración roja y ausencia de cuerpos de inclusión de una IFI negativa.....	26
16: Concurrencia de ehrlichiosis con otras patologías. A partir de un estudio de 238 casos diagnosticados por IFI	28
17: Transfusión realizada con sangre fresca, a un perro que padecía trombocitopenia severa y anemia, producidas por una ehrlichiosis.....	31
18: Interpretación de resultados	37

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO	PÁG.
1: Jurisdicción CESAMICA.....	50
2: Ficha de identificación	51
3: Determinación de la edad en el perro por su dentadura	52
4: Datos de perros muestreados.....	54
5: Fotos	58
6: Análisis estadístico	62

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La ehrlichiosis canina, producida por *Ehrlichia canis* es reconocida como una enfermedad infecciosa importante de distribución mundial y potencialmente mortal en perros y otros miembros de la familia Canidae.

Esta importante enfermedad, tiene como vector a la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus*, que se encuentra frecuentemente en regiones tropicales y subtropicales. El distrito de castilla presenta un clima adecuado para el desarrollo de este vector, lo cual predispone a que nuestras mascotas padezcan esta enfermedad.

Dentro de la jurisdicción del “Centro de Salud Materno Infantil de Catilla” (CESAMICA), Castilla – Piura, comúnmente los perros presentan un gran número de garrapatas (vectores de ehrlichiosis), lo cual debe ponernos en alerta y realizar mejores medidas de prevención.

Debido a que se presentan varios casos clínicos diagnosticados como ehrlichiosis canina en Piura, pero no se realiza el diagnóstico etiológico de esta enfermedad es importante este estudio de prevalencia para conocer la verdadera situación epidemiológica de la enfermedad en nuestra zona y así proporcionar información a los profesionales médicos veterinarios y el método utilizado sirva como una alternativa al diagnóstico definitivo de la misma. Así mismo, los resultados de este estudio sirven como punto de partida para futuros trabajos de investigación.

El objetivo de esta investigación fue determinar la seroprevalencia de ehrlichiosis en *Canis lupus familiaris* de la jurisdicción de CESAMICA del distrito de Castilla – Piura, planteando la hipótesis de que más del 16,5% de perros de la jurisdicción CESAMICA, Castilla – Piura, presentan anticuerpos contra *E. canis*.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Inocuma (1999), en el hospital animal de Yamaguchi, analizó 430 muestras sanguíneas de perros dentro del periodo de abril de 1994 y julio de 1998. Obteniendo el 4,7% de seropositividad a *E. canis*.⁹

Rodríguez y col. (2000), en el estado de Yucatán, reportan que de 493 muestras para el diagnóstico de *E. canis* en el laboratorio de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, el 100% resultaron negativas a pesar de haber una alta concentración de *R. sanguineus* en la región.¹⁵

Batzman y col. (2001), reportaron una prevalencia de 20,7% en 284 perros muestreados procedentes de distintas regiones de Turquía.⁴

O' Dwyer y col. (2001), reportaron en una investigación efectuada en 250 perros procedentes de siete áreas rurales boscosas de Río de Janeiro, Brasil, mediante la técnica de frotis sanguíneo, la presencia de un 4,8% de *E. canis*.¹³

Suto y col. (2001), confirman el primer caso de *E. canis* en Japón, considerado hasta entonces como área libre de la enfermedad.¹⁸

Beugnet y col. (2002), en un estudio realizado en la Isla de Reunión, Francia, en 127 perros, permitió identificar la frecuencia de la ehrlichiosis en tres grupos de animales con signología clínica, asintomáticos y en perros callejeros. Las prevalencias encontradas fueron del 32%, 15,4% y 59,5 respectivamente.⁵

Tarelo (2003), en Italia, menciona frecuencias del 0,5 - 11%, en un estudio retrospectivo de 35 casos clínicos, durante el periodo del 1995 – 2000, diagnosticados citológicamente.¹⁹

Adrianzén y col (2003), determinaron la prevalencia de *Ehrlichia canis* en los distritos de Chorrillos, La Molina y San Juan de Miraflores. Para ello recolectaron muestras de sangre de 140 caninos al azar sin distinción de raza, edad y sexo, durante los meses de febrero a mayo del 2003. Se detectó anticuerpos contra *E. canis* mediante la técnica de ELISA, utilizando un kit comercial. Se obtuvo una prevalencia de 16,5%. Este estudio reporta por primera vez en el país anticuerpos contra *E. canis*.¹

López y col. (2007), en Chile, determinaron IgG. anti-R. conorii en 77 caninos obteniendo como resultado que el 35% de los caninos presentaban IgG. Anti-Rickettsia.¹¹

Paredes (2010), en Guatemala, trabajo con 40 perros, el 50% de las muestras fueron tomadas de perros con garrapatoxis (grupo A) y el 50% restante de perros sin garrapatoxis pero con antecedentes de haber tenido garrapatas durante los últimos 18 meses (grupo B). Del total de cuarenta muestras sometidas a estudio, seis perros (15%) presentaron anticuerpos circulantes contra *E.canis*. De las muestras tomadas pertenecientes al grupo A, dos fueron positivas y de las pertenecientes al grupo B cuatro fueron positivas.¹⁴

2.2 DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD

La ehrlichiosis, en su forma monocítica es una enfermedad infecciosa del perro, causada por un parásito intracelular obligado perteneciente a la familia *Rickettsiaceae*, *Ehrlichia spp.* caracterizada por la reducción de los elementos celulares de la sangre. La más común de todas ellas es *E. canis* que es transmitida por la garrapata que infesta con frecuencia a los perros: *Rhipicephalus sanguineus*. La ehrlichiosis es una enfermedad zoonótica.^{7, 8, 16, 20, 21}

Ehrlichia canis fue identificada por primera vez en Algeria en 1935. Vietnam, causando la muerte de cientos de perros militares. Posteriormente se le prestó atención en 1987 cuando *Ehrlichia chaffeensis*, un organismo muy emparentado, fue identificado como la causa de la erlichiosis monocítica humana. Subsecuentemente, en 1996, se demostró que *E. chaffeensis* causa signos de enfermedad en los perros indistinguible de la infección provocada por *E. canis*.¹⁶

La enfermedad es también conocida como rickettsiosis canina, fiebre hemorrágica canina, enfermedad del perro rastreador, tifus de la garrapata canina, desorden hemorrágico de Nairobi y pancitopenia tropical canina, nombres que representan diferentes aspectos de una misma enfermedad. Esta enfermedad es reconocida como una enfermedad infecciosa importante y potencialmente fatal de los perros y otros miembros de la familia *Canidae*.²¹ (Tabla 1).

Tabla 1. Especies y características de *Ehrlichia* sp.

ESPECIES	NOMBRE COMÚN DE LA ENFERMEDAD	HOSPEDADOR	CÉLULAS AFECTADAS	VECTOR PRIMARIO	DISTRIBUCIÓN
<i>E. bovis</i>	Ehrlichiosis bovina	Bovinos	Células mononucleares	<i>Hyalomma</i> <i>spp.</i>	Medio este, África, Sri Lanka
<i>E. canis</i>	Ehrlichiosis canina	Perros	Principalmente células mononucleares	<i>Rhipicephalus</i> <i>sanguineus</i>	Mundial
<i>E. chaffeensis</i>	Ehrlichiosis monocítica humana (HME)	Perro, ciervos, cabras, humano.	Principalmente células mononucleares	<i>Amblyomma</i> <i>americanum</i>	USA
<i>E. equi</i>	Ehrlichiosis Equina	Caballos roedores y llama	Granulocitos	<i>Ixodes</i> <i>pacificus</i>	USA, Europa
<i>E. ewingii</i>	Ehrlichiosis granulocítica canina	Perros, humano.	Granulocitos	<i>Amblyomma</i> <i>americanum</i>	USA
<i>E. ovina</i>	Ehrlichiosis ovina	Ovejas	Células mononucleares	Desconocido	Medio este
<i>E. phagocytophila</i>	Fiebre de la picadura, fiebre del heno.	Ovejas, bisón, cabras, ciervo, humano.	Principal granulocitos	<i>Ixodes ricinus</i>	Europa
<i>E. platys</i>	Trombocitopeni a cíclica	Perros	Plaquetas	<i>Rhipicephalus</i> <i>sanguineus</i>	USA, Taiwán, Grecia , Israel
Agente EGH	Ehrlichiosis granulocítica humana	Ciervos y roedores salvajes	Granulocitos	<i>I. scapularis</i> , <i>I. pacificus</i> en USA; <i>I.</i> <i>ricinus</i> en Europa	USA, Europa

FUENTE: Recuperado de International Veterinary Information Service (IVIS) Ehrlichiosis
monocítica canina.²¹

2.2.1 Agente etiológico

Existe un gran número de *Ehrlichia* identificadas recientemente que provocan enfermedad en el perro y el humano, así como también afecta a muchos animales domésticos. La enfermedad clásica es una enfermedad con curso agudo a crónico que está provocada por una infección de las células mononucleares por *Ehrlichia canis*.² (Fig.1).

Fig. 1. Inclusión compatible con *Ehrlichia spp.* en el interior de una célula mononuclear en extensión sanguínea.



FUENTE: Ehrlichiosis enfermedades parasitarias.²

Ehrlichia spp es un agente infeccioso de la familia *Rickettsiaceae*, pleomórfico e intracelular obligado. En cuanto a su distribución taxonómica tenemos que pertenece a la familia *Anaplasmataceae*, dentro del orden de los *Rickettsiales*, reino Monera.² (Tabla 2)

Tabla 2. Taxonomía de *Ehrlichia canis*.

<u>Dominio:</u>	<u>Bacteria</u>
<u>Filo:</u>	<u>Proteobacteria</u>
<u>Clase:</u>	<u>Alphaproteobacteria</u>
<u>Orden:</u>	<u>Rickettsiales</u>
<u>Familia:</u>	<u>Anaplasmataceae</u>
<u>Género:</u>	<u>Ehrlichia</u>
<u>Especie:</u>	<u>Ehrlichia chaffeensis</u> <u>Ehrlichia ewingii</u> <u>Ehrlichia canis</u> <u>Ehrlichia muris</u> <u>Ehrlichia ruminantium</u>

FUENTE: Ehrlichiosis enfermedades parasitarias.²

Históricamente, se pensaba que las especies de *Ehrlichia* infectaban a un rango de huéspedes muy estrecho. Actualmente la evidencia indica que varias especies de *Ehrlichia* pueden infectar a múltiples especies de hospedadores. *E. canis* difiere del resto de los organismos de su grupo en algunos aspectos como, su replicación dentro de los fagosomas de la célula hospedadora, su ultra estructura, su tropismo por los leucocitos circulantes, su composición antigénica y su transmisión exclusiva, en la mayoría de las especies, por picadura de garrapata.⁷

Estructuralmente, son parecidos a los bacilos gramnegativos, contienen ADN y ARN, así como enzimas para el ciclo de Krebs y ribosomas para la síntesis de proteínas, se multiplican mediante fisión binaria y son inhibidas por antibióticos del grupo de las tetraciclinas.^{8, 12, 17}

E. canis fue identificada por primera vez en 1935 en el Instituto Pasteur de Argelia por Don atien y Les toquard tras observar que algunos perros infestados por garrapatas desarrollaban ocasionalmente un proceso febril agudo que cursaba con anemia. En las extensiones sanguíneas de los perros infectados, observaron unos pequeños microorganismos en el interior de monocitos, creyendo en un principio que podría tratarse de alguna especie de *Rickettsia*, por lo que recibió el nombre de *Rickettsia canis*. Casi una década después, Moshkovskii sustituyó ese nombre por el actual *Ehrlichia canis*, como reconocimiento a Paul Ehrlich, gran bacteriólogo alemán. A partir de entonces se describieron casos de ehrlichiosis canina en distintos países del centro y sur de África, en la India y en Estados Unidos, siendo considerada como una enfermedad leve caracterizada por la presentación de fiebre, vómitos y secreción óculo nasal.¹⁶

En la década de los sesenta, se describió en perros militares británicos destacados en Singapur y en perros americanos destacados en Vietnam. Un proceso patológico agudo, que cursaba con manifestaciones hemorrágicas graves, pancitopenia y emaciación, causando un gran número de bajas en estas poblaciones caninas. Debido a las dudas surgidas en torno a su etiología, este proceso recibió distintas denominaciones tales como rickettsiosis canina, tifus canino, fiebre hemorrágica canina, síndrome hemorrágico idiopático, enfermedad del perro de rastreo y pancitopenia tropical canina, si bien el más aceptado fue es te último. Años más tarde, distintos trabajos señalaron a *E. canis* como el agente causal de la pancitopenia tropical canina, comprobándose que el poder patógeno de estos

microorganismos no era tan benigno como se pensaba, al menos en ciertas poblaciones caninas. Con excepción de estos brotes en poblaciones de perros militares, la ehrlichiosis canina se consideraba una enfermedad poco frecuente y limitada geográficamente a áreas tropicales y subtropicales.¹⁶

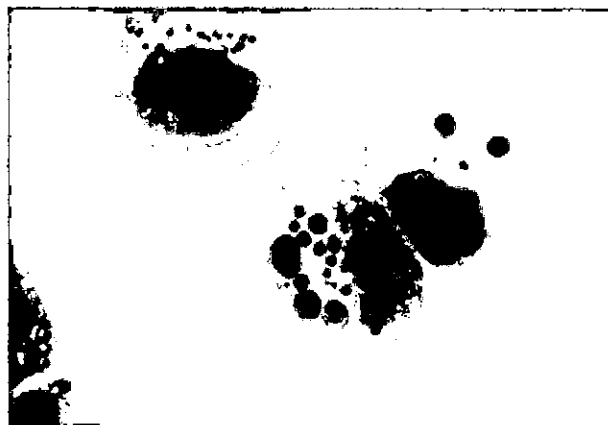
Sin embargo, a partir de 1986 se produjo un impulso en las investigaciones, motivado principalmente por el descubrimiento en medicina humana en Estados Unidos de una enfermedad desconocida hasta el momento, producida por un organismo íntimamente relacionado con *E. canis* y que se denominó *E. chaffensis*. Al mismo tiempo, la ehrlichiosis canina se estudió con mayor profundidad, ampliándose su distribución a zonas hasta entonces libres de la enfermedad, siendo incluida en la actualidad, junto con el resto de las ehrlichiosis, en la lista de las enfermedades emergentes en todo el mundo.¹⁶

2.2.2 Ciclo biológico de *E. canis*

E. canis, al igual que el resto de las especies de Ehrlichias, es una bacteria Gram negativa, que se comporta como un parásito obligado intracelular.^{16, 20}

Las células diana de *E. canis* son las células del “Sistema Mononuclear Fagocitario” (SMF) y más concretamente los monocitos y algunos tipos de linfocitos circulantes. Es en el interior de estas células donde se desarrolla su ciclo vital a partir de unas formas cocoides o elipsoides que tienen un diámetro aproximado entre 0,5 y 0,9 micras y que reciben el nombre de cuerpos elementales¹⁶ (fig. 2).

Fig. 2. Cultivo de *Ehrlichia* spp. Distintas formas evolutivas intracitoplasmáticas.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

La entrada del microorganismo en el interior de la célula parece llevarse a cabo por endocitosis mediada por receptores proteicos existentes en la superficie celular. En las células infectadas no se produce la fusión fagolisosómica y los cuerpos elementales aumentan su tamaño y se dividen en el interior del fagosoma. La replicación se produce por fisión binaria; a los 3 – 5 días de postinfección, aparece un pequeño número de cuerpos elementales agrupados, en forma de inclusiones pleomórficas con un tamaño aproximado de 1,4 a 2 micras y que reciben el nombre de cuerpos iniciales (fig. 1). Durante los 7 -12 días siguientes continúa el crecimiento y la replicación de estos microorganismos dando lugar a las mórulas (mayores de 2 micras), denominadas así por su típica forma (fig. 2). Las mórulas se encuentran rodeadas por una membrana que engloba un número variable de cuerpos elementales (incluso hasta 40). La destrucción de la célula hospedadora parece que tiene lugar cuando el citoplasma celular se encuentra repleto de microorganismos, lo que trae consigo una liberación de cuerpos elementales que invaden nuevas células.¹⁶

El ciclo de infección completo, desde la invasión de la célula hospedadora hasta la salida de ella, se completa en 12-28 días.¹⁶

Como anteriormente ha sido comentado existen otras especies de *Ehrlichia* que han sido señaladas como capaces de infectar al perro y que pasamos a describir brevemente en la tabla 2.¹⁶

Tabla 3. Situación actual del poder infectante para el perro y el hombre de las distintas especies de *Ehrlichia* sp.

<i>Ehrlichia</i> spp.	Perro	Hombre
<i>E. canis</i>	+	+ (1 caso)
<i>E. ewingii</i>	+	+
<i>E. platys</i>	+	?
<i>E. risticii</i>	+	-
<i>E. phagocytophila</i>	?	?
<i>E. equi</i>	+	?
<i>E. chaffeensis</i>	+	+
<i>E. sennetsu</i>	-	+
<i>E. granulocítica humana</i>	+	+

FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

2.2.3 Distribución

La distribución de la ehrlichiosis guarda relación con la del vector, *Rhipicephalus sanguineus*, la cual está ampliamente distribuida en mayor incidencia en regiones tropicales y subtropicales. En el norte de Europa, Norteamérica, África, Centro y sur América y el Caribe.^{7, 20, 21}

Debido a la infección subclínica crónica, un perro puede ser transportado de una región endémica a otra no endémica y luego desarrollar las manifestaciones patológicas de la enfermedad años después de la infección inicial.^{7, 21}

2.2.4 Transmisión

Otra de las características comunes de las infecciones por ehrlichias que afectan al perro es que se transmiten por picaduras de garrapatas. El único vector conocido para la transmisión de *E. canis* es la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. *E. canis* en el interior de la garrapata se multiplica en el interior de los hemocitos y de las células de las glándulas salivares, siendo la principal fuente de infección para el perro las secreciones de las glándulas salivares contaminadas con *E. canis*. En el momento en que la garrapata se alimenta, contamina la zona con dichas secreciones. La atracción de leucocitos al lugar de la picadura debido a la inflamación y las propias secreciones de la garrapata podría facilitar la infección de las células mononucleares.¹⁶

En cuanto a la transmisión de *E. canis* desde el perro a la garrapata, ocurre más fácilmente durante las dos o tres primeras semanas de infección ya que los leucocitos infectados son más prevalentes, en la sangre de perro, en estas fases iniciales. No obstante, *E. canis* puede persistir durante largos periodos en la sangre de perros que han superado una fase aguda de la enfermedad, incluso en aquéllos sin sintomatología clínica durante más de cinco años. Este hecho explica que diferentes autores consideren al perro, y no tanto a la garrapata, como el reservorio natural de *E. canis*.¹⁶

La transfusión de sangre de estos animales provoca la infección activa de perros receptores susceptibles. Aunque infrecuente, este mecanismo de transmisión no puede ser obviado, siendo la causa de que este tipo de accidentes se produzcan ante una ausencia en el control de los perros donantes.¹⁶

Una vez producida la infestación el período de incubación es de 2 a 3 semanas. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son difíciles de delimitar ya que hay considerables variaciones en el tipo, duración y severidad del historial clínico, así como en las anormalidades físicas y clínico-patológicas, por los siguientes motivos:

2

1. La ehrlichiosis puede ir acompañada de otras enfermedades concomitantes, tales como la Babesiosis, Filariosis, o Leishmania.
2. La gravedad de la enfermedad está en función de:
 - La cepa microbiana en animales con inmunidad celular disminuida.
 - La existencia de otra enfermedad concomitante en ciertas razas como el Pastor Alemán.
 - La edad del animal, (más grave en animales jóvenes).

2.3 VECTOR

Centrándonos en la transmisión de *E. canis* por *R. sanguineus*, tanto las larvas como las ninfas y las formas adultas pueden ingerir ehrlichias al alimentarse en un hospedador infectado (fig. 3). La transmisión transestadial (de larva a ninfa y de ninfa a adulto) es la única forma confirmada, mientras que no se ha conseguido probar la transmisión transovárica (de adultos a huevos) ¹⁶. (fig. 4).

Fig. 3. Garrapata (*Rhipicephalus sanguineus*) repleta (alimentada de sangre) fijada a un perro.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis* ¹⁶.

Es importante destacar como *R. sanguineus* es probablemente la especie de garrapatas más ampliamente distribuida en el mundo, ya que con excepción de la Antártida, se encuentra en el resto de los continentes: Norte América, Centro América y Sudamérica, África, Madagascar, Oriente Medio, Asia, Australia y Sur de Europa. ¹⁶

En áreas tropicales y subtropicales se puede encontrar la garrapata durante todo el año. En zonas de clima mediterráneo, su presencia se extiende desde principios de la primavera hasta el otoño, aunque dependiendo de la climatología, algunas garrapatas pueden encontrarse en los perros durante el invierno. La mayoría de los ejemplares de *R. sanguineus* son activos durante la primavera, con un ligero descenso en la población durante el verano, para apreciarse un segundo incremento durante el otoño. ¹⁶

En general todas las especies de garrapatas presentan una característica específica en sus hospedadores, aunque ocasional (o accidentalmente) pueden alimentarse en otros animales no específicos o incluso en el hombre. Esta inusual capacidad de adaptación ha conducido a que *R. sanguineus* haya sido encontrada en un gran número de animales, desde mamíferos (caballos, rumiantes, gatos y liebres) hasta reptiles y aves. No obstante, *R. sanguineus* es considerada una garrapata típica del perro y otros cánidos (lobos, coyotes y zorros) y de presentarse en otros animales o personas puede deberse a la existencia de una estrecha convivencia entre éstos y los perros. ¹⁶

2.3.1 Ciclo biológico de *Rhipicephalus sanguineus*

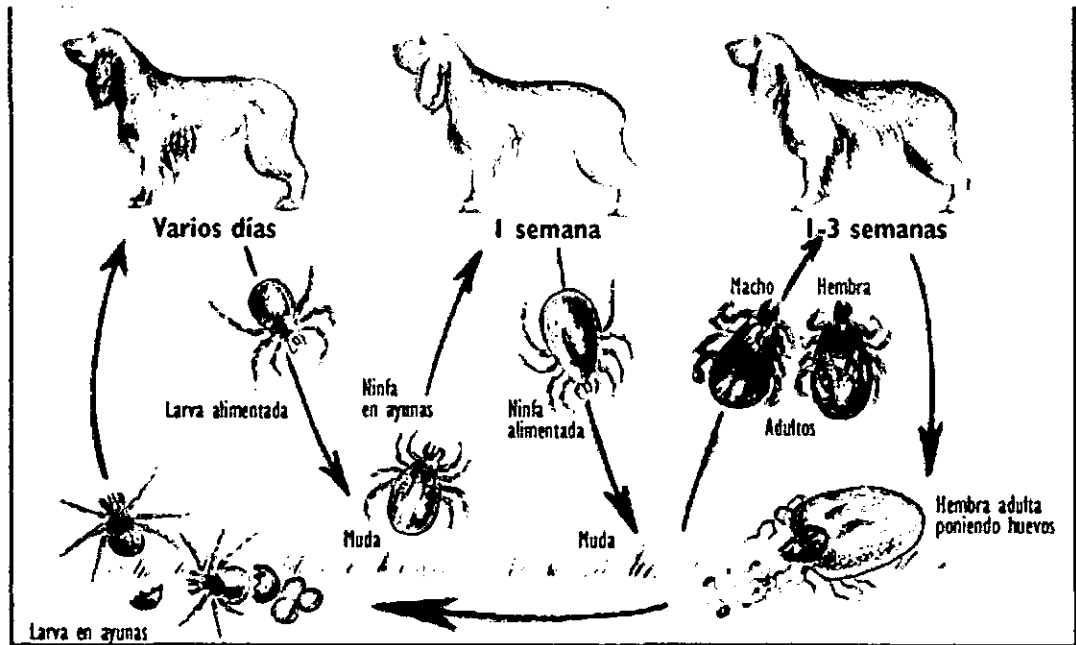
R. sanguineus es un ectoparásito hematófago, tiene un ciclo de vida con 4 estadios: huevos, larvas, ninfas y adultos. Su distribución es cosmopolita, y tiene como hospederos a los caninos, en ocasiones en felinos, humanos, ganado, dependiendo de la cercanía y convivencia con los canes. ³

Para la identificación de este género, se deben considerar sus partes, como son: el escudo que ocupa toda la región dorsal en macho, pero en hembra solo está craneal; presenta un surco anal posterior, base del capítulo con proyección lateral, piezas bucales si proyección lateral, tan largas como el capítulo y festones posteriores. ³

R. sanguineus es una garrapata de tres hospedadores, en cuyo ciclo de vida (fig.4) podemos destacar los siguientes datos: La hembra repleta cae al suelo y tras un periodo de preoviposición entre 3 a 83 días pone alrededor de 4 000 huevos (entre 3 000 – 5 000). El periodo de incubación es de 8 a 67 días, tras el cual eclosionan las larvas. Las larvas pueden sobrevivir sin alimentarse más de 253 días, periodo en el

cual buscan un hospedador en que fijarse para alimentarse durante 3 a 7 días. A continuación, se desprenden e inician la metamorfosis a ninfa durante un periodo de 6 a 23 días.^{3, 16}

Fig. 4. Ciclo biológico de *Rhipicephalus sanguineus*



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

Una vez realizada la muda, las ninfas pueden sobrevivir más de 183 días sin alimentarse. Tras infestar un hospedador, la ninfa se alimenta durante 4 a 9 días. Una vez repleta se desprende y muda a adulto (macho o hembra) en un plazo de 12 a 129 días.^{3, 16}

Las formas adultas sin alimentarse pueden sobrevivir más de 568 días. Tras fijarse en un hospedador las hembras se alimentan durante 6 a 50 días.³ Teniendo en cuenta estos datos, se comprueba que en condiciones favorables el ciclo de vida de *R. sanguineus* puede completarse incluso en apenas dos meses, por lo que en zonas cálidas es frecuente que varias generaciones de garrapatas puedan darse en el mismo año. Por el contrario, cuando la longevidad de las garrapatas se prolonga, puede conducir a que algunas de sus fases como la forma adulta sobreviva más de un año.¹⁶

Como antes se ha señalado cualquier fase de desarrollo de la garrapata (larva, ninfa o adulto) puede transmitir la enfermedad; tanto los machos como las hembras son capaces de hacerlo. Un adulto de garrapata puede transmitir *E. canis* y, por tanto,

causar ehrlichiosis canina al menos durante 155 días después de haberse infectado. Con este periodo de infectividad tan largo, existe la posibilidad de que garrapatas infectadas en otoño sobrevivan durante el invierno, pudiendo ser capaces de transmitir la enfermedad en la primavera siguiente. De esta manera, a pesar de no producirse la transmisión transovárica de *E. canis*, la garrapata actuaría como importante reservorio del agente etiológico.¹⁶

A diferencia de la mayoría de las garrapatas, las garrapatas del género *Rhipicephalus* poseen un geotropismo negativo, por lo que los adultos evitan ocultarse en el suelo. Si llegasen a caer, intencional o accidentalmente, de su hospedero, buscarán lugares altos, preferentemente entorno cercano, como pastos altos, paredes, grietas verticales en muros rocosos, donde sus anfitriones suelen transitar o dormir, a fin de dejarse caer a la primera oportunidad en un incauto hospedador potencial que pase por ahí, después de haberlo percibido con su olfato o mediante el calor corporal emitido por el animal en cuestión.¹⁶

En el perro, las garrapatas adultas se encuentran fundamentalmente en las orejas, a lo largo de la nuca y entre los dedos de las patas.³ Las larvas y las ninfas normalmente se localizan en las áreas de pelo largo del cuello. En infestaciones masivas todos los estadios de la garrapata pueden encontrarse en la mayoría de las regiones del cuerpo¹⁶ (fig.5).

Fig. 5. Infestación masiva de garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) en un perro.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

2.4 PATOGENIA

Ehrlichia canis es transmitida por la especie de garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. La transmisión en la garrapata ocurre entre estados de desarrollo y no transovariamente; las larvas y las ninfas se infectan al alimentarse de perros con enfermedad aguda, además los perros en estadio subclínico también son una fuente de infección.²¹

En la garrapata la *Ehrlichia* se disemina desde el intestino a las glándulas salivares a través de las células sanguíneas. Al alimentarse, las garrapatas inyectan en el lugar, las secreciones de las glándulas salivares contaminadas con *Ehrlichia canis*. Los tres estados (larva, ninfa y adulto), son capaces de transmitir la enfermedad. Se ha demostrado que las garrapatas pueden sobrevivir como adultos 155 a 568 días sin alimentarse y transmitir la infección por 155 días después de infectarse y desprenderse del huésped. Las garrapatas son más abundantes durante las estaciones cálidas, y la mayoría de los casos agudos de EMC ocurren durante esos periodos. Debido a que la transmisión de *Ehrlichia* es mecánica y no biológica, las transfusiones de sangre infectada pueden también transmitir la *Rickettsia*.^{7, 21}

La patogénesis de EMC incluye un período de incubación de 8 a 20 días, seguido de una fase aguda, subclínica y a veces crónica. La fase aguda, dura entre 2 - 4 semanas. En esta, el microorganismo ingresa al torrente sanguíneo y linfático y se localiza en los monocitos del sistema retículo-endotelial del bazo, hígado y ganglios linfáticos, donde se replica por fisión binaria. Desde allí, las células mononucleares infectadas, diseminan a las rickettsias vía sanguínea hacia otros órganos del cuerpo, especialmente pulmones, riñones y meninges. Las células infectadas se adhieren al epitelio vascular, produciendo una vasculitis e infección en el tejido subendotelial. El consumo, secuestro y destrucción de las plaquetas contribuyen a la trombocitopenia. Los recuentos leucocitarios son variables y la anemia, posiblemente relacionada con la supresión de la eritrogénesis y destrucción eritrocítica acelerada, se desarrolla en forma progresiva.^{7, 21}

2.5 SINTOMATOLOGÍA

La ehrlichiosis canina, como hemos comentado, puede presentarse en su forma aguda, subclínica y crónica.¹⁶

2.5.1 Fase aguda

Aparece tras el periodo de incubación y suele durar de 2 a 4 semanas. Los signos clínicos son bastante inespecíficos: fiebre, apatía y decaimiento, anorexia, pérdida de peso y, en ocasiones, linfadenomegalia, esplenomegalia y edema en extremidades o en escroto. La presencia de garrapatas no es un signo constante en esta fase; de hecho solamente en un 40% de estos animales se han observado garrapatas. También, ocasionalmente, pueden presentarse síntomas hemorrágicos, si bien éstos son más frecuentes durante la fase crónica de la enfermedad. Incluso en perros con acusada trombocitopenia, sólo excepcionalmente aparecen cuadros de este tipo.¹⁶

Además, se ha descrito la presentación de sintomatología respiratoria debida a la existencia de procesos inflamatorios y hemorrágicos: exudado óculonasal, disnea, cianosis y, a veces, aumento de la intensidad de los sonidos respiratorios. Radiológicamente estos animales pueden presentar radiopacidades intersticiales difusas en pulmón.¹⁶

En infecciones experimentales se ha encontrado uveítis; sin embargo, la aparición de síntomas oculares es mucho más frecuente en la fase crónica de la enfermedad. Todas estas manifestaciones clínicas, en algunos animales, pueden remitir espontáneamente sin tratamiento.¹⁶

2.5.2 Fase subclínica

Durante esta fase únicamente aparecen alteraciones biopatológicas. Los animales normalmente no tienen fiebre y recuperan el peso perdido, no presentando sintomatología clínica alguna.¹⁶

2.5.3 Fase crónica

Aproximadamente la mitad de los perros presentan cuadros hemorrágicos, tales como petequias y equimosis en piel y mucosas, epistaxis, melena y hematomas en los lugares de punción venosa. También se describe la presentación de hemorragias internas, hematuria, hemorragia retiniana, hemoptisis, hematemesis, hemartrosis y hemorragia cerebral.¹⁶

La presencia de hemorragias en el miocardio puede producir síntomas cardíacos como taquicardia o diferentes arritmias que pueden acompañarse de una intensa

disnea. Si la hemorragia o la anemia son severas, el animal puede presentar una marcada hipotensión que puede desencadenar un cuadro de shock. De todos estos síntomas hemorrágicos, el más frecuente es la epistaxis (fig. 6), unilateral o bilateral.¹⁶

Fig. 6. Epistaxis típica en un perro afectado de ehrlichiosis canina.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

Los síntomas respiratorios en esta fase se deben a la existencia de un proceso pulmonar que afecta a los capilares intersticiales; normalmente podemos observar un exudado nasal mucopurulento acompañado, a veces, de disnea y tos, resultado de una neumonía intersticial.¹⁶

La frecuencia de presentación de este proceso es elevada por lo que algunos autores recomiendan, como apoyo al diagnóstico, la realización de un estudio radiológico de tórax, que nos puede mostrar desde un ligero patrón lineal a nivel pulmonar hasta un marcado infiltrado intersticial con opacidades peribronquiales.¹⁶

En relación con el sistema nervioso, se han detectado distintos procesos como ataxia, síndromes de neurona motora superior e inferior, hiperestesia generalizada o localizada e incluso se ha llegado a asociar con síndromes convulsivos. También se han observado síndromes vestibulares centrales y periféricos. Estas patologías se relacionan con meningoencefalitis por la presencia de infiltrados de células plasmáticas o de hemorragias en las meninges.¹⁶

Además, la ehrlichiosis canina se ha relacionado con diferentes patologías oculares, tales como fotofobia, conjuntivitis, petequias en conjuntiva, opacidad corneal,

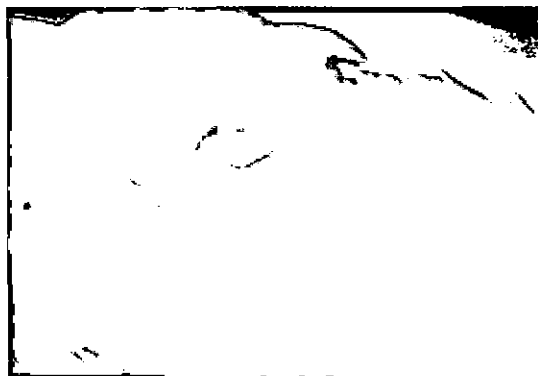
uveítis anterior o panuveítis e hipema. También puede aparecer retinitis difusa, desprendimiento de retina, hemorragia subretiniana, papiledema y neuritis óptica. De todos ellos, el proceso más típico y que más habitualmente se manifiesta es la uveítis anterior. Todas estas alteraciones pueden presentarse tanto en la fase aguda como en la crónica, si bien es en esta última en la que se presentan con mayor frecuencia. Pese a ello, el estudio histológico de los ojos de perros infectados experimentalmente sólo revela, durante la fase crónica, focos aislados de células plasmáticas, neutrófilos y macrófagos cargados de pigmento en el tracto uveal.¹⁶

También se ha asociado la infección por *E. canis* a la presencia de polimiositis y a cuadros de poliartritis o monoartritis que producen cojeras o debilidad en las extremidades. Sin embargo, la sintomatología articular suele ser mucho más frecuente en infecciones por *E. ewingii*.¹⁶

En fases crónicas la funcionalidad renal puede estar afectada dando lugar a la presentación de poliuria, polidipsia, anorexia, vómitos e incluso úlceras en la cavidad oral. Si aparece una glomerulopatía inmunomediada, el animal desarrollará una insuficiencia renal que normalmente no responde al tratamiento. El aparato reproductor femenino también puede afectarse, presentándose hemorragias vaginales postparto, infertilidad, abortos, mortalidad neonatal y hemorragias prolongadas en el proestro.¹⁶

Aunque hasta hace poco la única sintomatología relacionada con la piel era de tipo hemorrágico (petequias y equimosis), recientemente se han descrito síntomas cutáneos en la fase crónica de esta enfermedad (figs. 7 y 8). Debido a la persistencia de *E. canis* durante prolongados periodos de tiempo, en esta fase se producen reacciones de hipersensibilidad que pueden tener su reflejo a nivel cutáneo.¹⁶

Fig. 7. Petequias y equimosis en un perro con ehrlichiosis crónica severa.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

Fig. 8. Lesiones cutáneas en un caso de ehrlichiosis canina.



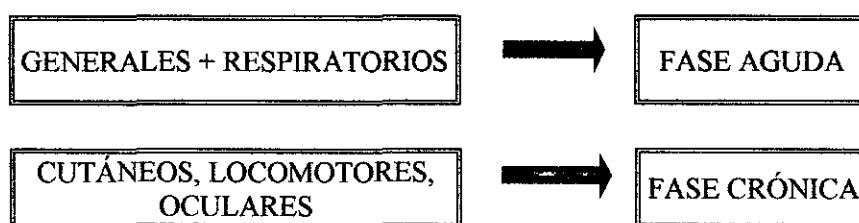
FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

Como se desprende de todo lo expuesto, aunque para cada una de las fases se describe un cuadro clínico con una sintomatología concreta, muchas de las manifestaciones clínicas pueden aparecer tanto en la fase aguda como en la crónica (fig. 9). El elevado número de síntomas y lesiones que pueden presentarse, como sobre todo la relativa inconstancia y la variable intensidad de los mismos hace difícil diferenciar clínicamente estas fases. Incluso la fase subclínica, teóricamente la más sencilla de clasificar, debido a la ausencia de síntomas que la caracteriza, en ocasiones podría ser confundida. Así, algunos animales en fase aguda o fase crónica leve presentan una sintomatología casi inaparente, por lo que puede pasar totalmente desapercibida. Según nuestra experiencia, hemos encontrado perros adultos teóricamente asintomáticos que, tras ser sometidos a tratamiento, recobraron una vitalidad que previamente habían perdido y que no había sido detectada por los dueños del animal.¹⁶

Estos casos tienen una gran importancia desde un punto de vista epizootiológico ya que pueden comportarse como reservorios de la enfermedad. La virulencia de la cepa de *E.*

canis, el grado de respuesta del perro afectado, su edad y raza son factores que determinan la evolución de la enfermedad con la presentación de un mayor o menor número de manifestaciones clínicas. Todos estos factores unidos al desconocimiento en la mayoría de los casos del tiempo transcurrido desde el momento de la infección, hacen que pocas veces dispongamos de los elementos necesarios para situar a cada paciente en una de estas fases de la infección.¹⁶

Figura 9. Manifestaciones clínicas más frecuentes en la ehrlichiosis canina según fase de la enfermedad.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

2.6 LESIONES

Durante la etapa aguda, las lesiones generalmente no son específicas, pero es común observar esplenomegalias y pulmones decolorados. Histológicamente se evidencia una hiperplasia linforreticular y manguitos perivasculares linfocíticos y plasmacíticos. En los casos crónicos estas lesiones pueden ir acompañadas de hemorragias difusas y aumento de la infiltración en los órganos de células mononucleares.¹⁶

2.7 DIAGNÓSTICO

La importancia de establecer, desde el primer momento, un diagnóstico correcto de ehrlichiosis, hace necesario que toda sospecha clínica deba ser complementada y confirmada con pruebas analíticas específicas. Aunque la detección por Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR) u observación del agente etiológico, a partir de muestras del animal, constituyen una prueba inequívoca de su infección por Ehrlichias, podemos encontrarnos con falsos positivos (errores en la identificación) y sobre todo falsos negativos. Es por ello por lo que las pruebas inmunológicas indirectas se consideran como método de elección.¹⁶

A pesar de que la inmunofluorescencia indirecta (IFI) es el método analítico de referencia, otros métodos inmunológicos son válidos para detectar una serología positiva del animal. No obstante, en toda prueba inmunológica siempre hay que considerar la

posibilidad de la existencia de reacciones cruzadas con otros agentes etiológicos, que proporcionarían falsos positivos.¹⁶

Por último, debido a la gran variedad de signos clínicos con los que cursa la ehrlichiosis, el diagnóstico diferencial debe incluir numerosas patologías, que igualmente conducen a la presentación de los mismos síntomas. Dentro de este cuadro se incluyen enfermedades autoinmunes, babesiosis, hepatozoonosis, pero sobre todo leishmaniosis, por lo que deberán ser tenidas en cuenta.¹⁶

Sin lugar a duda, a la hora de efectuar un diagnóstico de ehrlichiosis canina, el procedimiento intuitivo (el denominado “ojo clínico”), basado en la experiencia clínica para identificar una sintomatología generalmente inespecífica, pero a la vez propia de la ehrlichiosis, muchas veces acompañada de antecedentes u otros signos clínicos que conducen a pensar en esta enfermedad, no puede ser sustituido por ningún tipo de metodología. Sin embargo, el rigor y la importancia de establecer, desde un primer momento, un diagnóstico correcto (acorde con los conocimientos científicos actuales y los avances tecnológicos, que han puesto a nuestro alcance toda una amplia batería de pruebas diagnósticas), hace necesario que toda sospecha clínica deba ser complementada y confirmada con pruebas analíticas específicas.¹⁶

Esta confirmación se hace aún mucho más imprescindible si se tiene en cuenta, primero, que las manifestaciones clínicas de la ehrlichiosis canina igualmente pueden presentarse en otras enfermedades; segundo, que no siempre los signos típicos de la enfermedad suelen estar presentes; y tercero, que la mejor forma de garantizar el mejor estado sanitario de los animales y de obtener el mayor éxito terapéutico, es intentando establecer un diagnóstico precoz.¹⁶

Por todo esto, aunque la sintomatología puede hacernos sospechar que estamos ante una ehrlichiosis, el diagnóstico definitivo se basa en la observación del agente etiológico o en la detección de anticuerpos específicos.¹⁶

2.7.1 Diagnóstico clínico

Unos antecedentes de infestación por garrapatas junto con la presentación de una sintomatología caracterizada por fiebre, apatía, adinamia, adelgazamiento, adenopatías, anorexia, palidez de mucosas, muchas veces acompañada de hemorragias, conjuntivitis, rinorrea, trastornos locomotores, dermatitis, etc. constituyen unos pilares sólidos en los que fundamentar un diagnóstico clínico de ehrlichiosis. Si además en los análisis rutinarios de

sangre se comprueba la existencia de una marcada hiperproteinemia y de una trombocitopenia, asociada de anemia y/o leucopenia, los datos clínicos que apuntan hacia una ehrlichiosis son todavía más evocadores.¹⁶

Aun así, el calificativo que podríamos aplicar al diagnóstico de ehrlichiosis no sería más que el de presuntivo, lo que sugiere la necesidad de una confirmación. Para ello, en la ehrlichiosis, como en todas las enfermedades, disponemos de métodos laboratoriales de diagnóstico directos e indirectos.¹⁶

2.7.2 Diagnóstico de laboratorio

2.7.2.1 Métodos directos

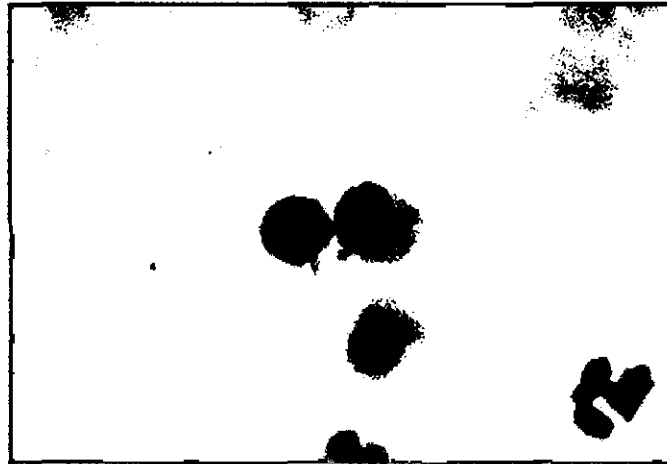
Se basa en la detección u observación del agente etiológico a partir de muestras obtenidas del animal sospechoso. La identificación de las mórulas, los cuerpos elementales y/o iniciales de *E. canis* en el interior de los linfocitos y/o monocitos sanguíneos de un perro constituyen una prueba inequívoca de su infección.¹⁶

La mejor forma de observar las Ehrlichias es en un frotis de sangre capilar (oreja, dedos, rabo), ya que se suelen encontrar mejor que en sangre periférica. Si se trabaja con sangre circulante (obtenida de la vena cefálica o yugular) es preferible realizar una extensión de la capa de glóbulos blancos, tras producir la leuconcentración por centrifugación o sedimentación.¹⁶

Los frotis se tiñen con los colorantes habitualmente empleados para la observación de citologías y leucocitos, como Giemsa o Romanowsky. La tinción más frecuentemente usada es la de tipo Romanowsky, ya que se realiza en poco tiempo. Comercialmente consta de tres reactivos: fijador (azul claro) y reactivos acidófilo (rojo) y basófilo (azul oscuro). El frotis, una vez seco, se sumerge en el primer reactivo (azul claro) siete veces, en el segundo (rojo), otras siete veces, y en el último (azul oscuro) 14 veces. Después se lava con agua, y tras secado se observa al microscopio con el objetivo de inmersión.¹⁶

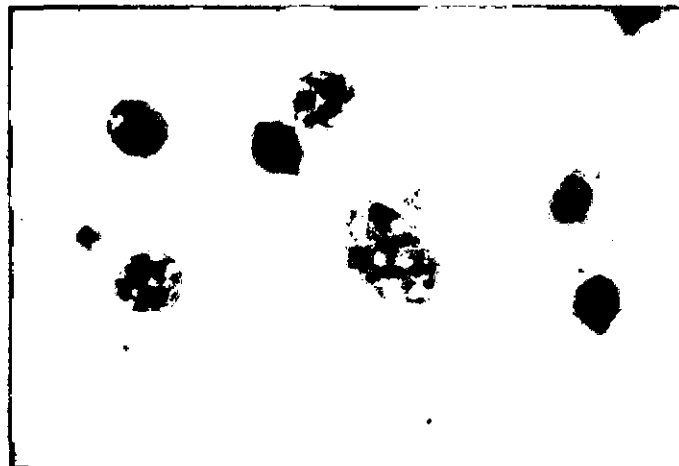
En el interior de los monocitos y linfocitos, se observan cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos de Ehrlichias (también llamadas mórulas, los de mayor tamaño) (figs. 10 y 11), teñidas de color violeta-azulado. Este método puede dar lugar a falsos positivos, si no se posee demasiada experiencia (al ser confundidos con otras inclusiones o artefactos), y sobre todo a falsos negativos, debido a que las mórulas suelen aparecer transitoriamente, y fundamentalmente en fase aguda.¹⁶

Fig. 10. Frotis sanguíneo. Cuerpos de inclusión compatibles con *Ehrlichia spp.* en el interior de una célula mononuclear.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis.* ¹⁶

Fig. 11. Frotis médula ósea. Mórula de *Ehrlichia canis* en el interior de una célula mononuclear.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis.* ¹⁶

Es por lo tanto la baja sensibilidad el gran inconveniente del diagnóstico etiológico y que el hecho de no detectar en las muestras sanguíneas los cuerpos de inclusión de *E. canis* no permite descartar que el animal esté padeciendo este proceso. ¹⁶

Con la aplicación en veterinaria de la técnica de la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR), las posibilidades del diagnóstico se amplían. Este método, aún no suficientemente desarrollado, determinaría ADN de *Ehrlichia*. En este caso, la detección de ADN de *Ehrlichia* nos indica que el parásito está dentro del organismo. En este tipo de

pruebas es importante que la interpretación de los resultados se haga con mucha cautela, en base a distinguir si hay una infección activa o no, es decir si la enfermedad progresa o no.
16

2.7.2.2 Métodos indirectos

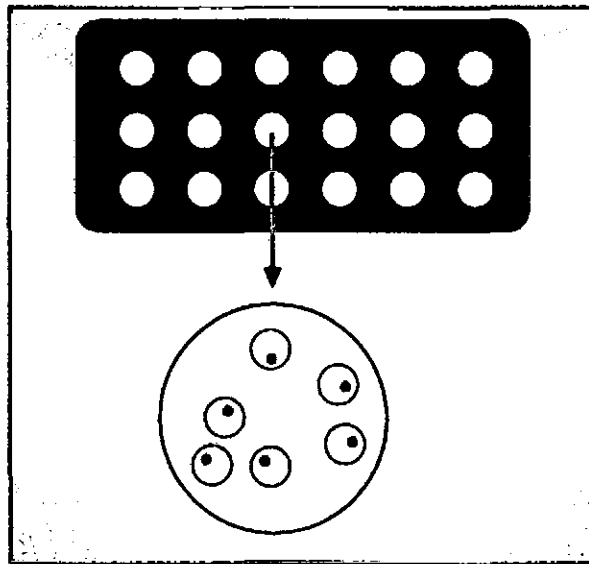
Una alternativa a la observación directa, que como anteriormente ha quedado de manifiesto no es siempre eficaz, es la detección de la presencia de un agente infeccioso por medio de la valoración de la respuesta inmunitaria del hospedador.¹⁶

El organismo, ante la presencia del parásito producirá anticuerpos, y éstos son fácilmente detectados por medio de técnicas analíticas, como la inmunofluorescencia indirecta (IFI) o el ELISA (enzimo inmuno ensayo).¹⁶

Ambas técnicas se basan en el mismo principio, la diferencia es que los anticuerpos se revelan de distinta forma, y con instrumentos analíticos diferentes.¹⁶

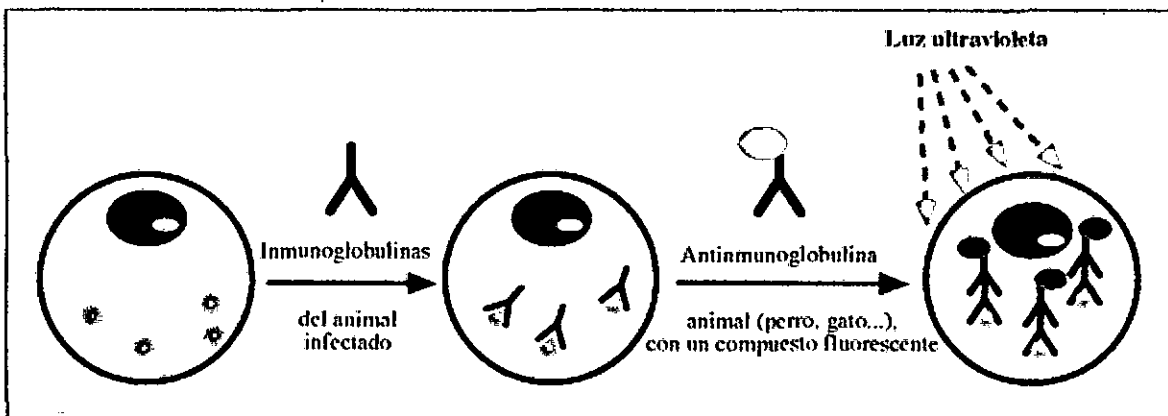
Esta técnica es actualmente el método analítico de referencia. Determina anticuerpos anti *Ehrlichia* específicos. La *Ehrlichia*, al ser un microorganismo que se comporta como un parásito intracelular obligado, se cultiva en el laboratorio, en cultivos primarios de macrófagos caninos o líneas celulares específicas (como la línea DH82). Estas células infectadas por una única especie de *Ehrlichia*, se fijan a un porta especial para fluorescencia que contiene varios “huecos” o pocillos (fig.12). Se diluye el suero del animal de forma seriada 10, 20, 40, 80, 160, 320. veces. A cada pocillo se añade un pequeño volumen (entre 10-20 microlitros) de cada dilución del suero y se incuba 30 minutos a 37°C. Tras la incubación, el porta se lava 2-3 veces con PBS (es un tampón fosfato-salino, de pH 7,5) y una vez más con agua destilada (fig.13). Si existieran en el suero inmunoglobulinas específicas contra *Ehrlichia*, estos anticuerpos se habrán unido a los correspondientes antígenos y con estos lavados eliminamos las inmunoglobulinas no fijadas que contenga el suero. Una vez seco el porta, se añade un suero anti-Ig G de perro conjugado con un compuesto fluorescente, diluido en PBS (dependiendo de las especificaciones del fabricante), y con azul de Evans. El colorante azul de Evans permite observar mejor la fluorescencia.¹⁶

Fig. 12. Sobre un porta se realiza toda la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI).



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

Fig. 13. Células infectadas experimentalmente con *Ehrlichia* sp., con la técnica de IFI.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

Si hubieran existido en el suero inmunoglobulinas específicas contra *Ehrlichia*, las inmunoglobulinas conjugadas se unirán al complejo antígeno-anticuerpo formado. Después, se realiza la misma pauta de lavado antes señalada, y cuando el porta esté seco, se cubre éste con glicerina tamponada y se sella con un cubreobjetos. Las portas se observan en un microscopio (objetivo de 40X) con luz ultravioleta, de 405 nm. Las mórulas se visualizan como puntos verde-brillantes, en el interior de las células, que aparecerán teñidas de rojo (fig.14). Si el resultado es negativo, sólo se visualizarán las células¹⁶ (fig.15).

Fig. 14. Coloración roja y cuerpos de inclusión de color verde brillante en una IFI positiva.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

Fig. 15. Coloración roja y ausencia de cuerpos de inclusión de una IFI negativa.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

2.7.2.2.1 ELISA

El método ELISA sigue el mismo principio que el de la IFI. Los antígenos están fijados a microplacas, en cada uno de los pocillos. En general, la incubación con el suero se realiza a la misma temperatura y el mismo tiempo que con la técnica IFI. El anticuerpo antinmunoglobulina animal lleva, en este caso, una enzima conjugada (peroxidasa, fosfatasa alcalina). La formación del complejo antígeno-anticuerpo-conjugado se revela, tras la adición del sustrato para la enzima conjugada, por la formación de un producto coloreado indicativo que la activación enzimática se ha desarrollado. Para parar la reacción enzimática, se utiliza un reactivo de pH extremo (5 ó 10). La lectura se realiza visualmente

o midiendo el color desarrollado (absorbancia o densidad óptica) en cada pocillo/muestra con un espectrofotómetro, a una longitud de onda apropiada para el tipo de color.¹⁶

Otros tipos de ELISA son los que se pueden realizar en cualquier clínica, sin necesidad de ningún instrumento adicional (“onestep”). Estos tipos de ELISA, comercializados por distintos laboratorios en forma de “Kits”, incluyen todo lo necesario para la determinación de ehrlichiosis. El veterinario, observando si aparece color en el círculo o banda correspondiente a la muestra de suero problema, sabrá que el animal presenta una serología positiva.¹⁶

2.7.3 Diagnóstico diferencial

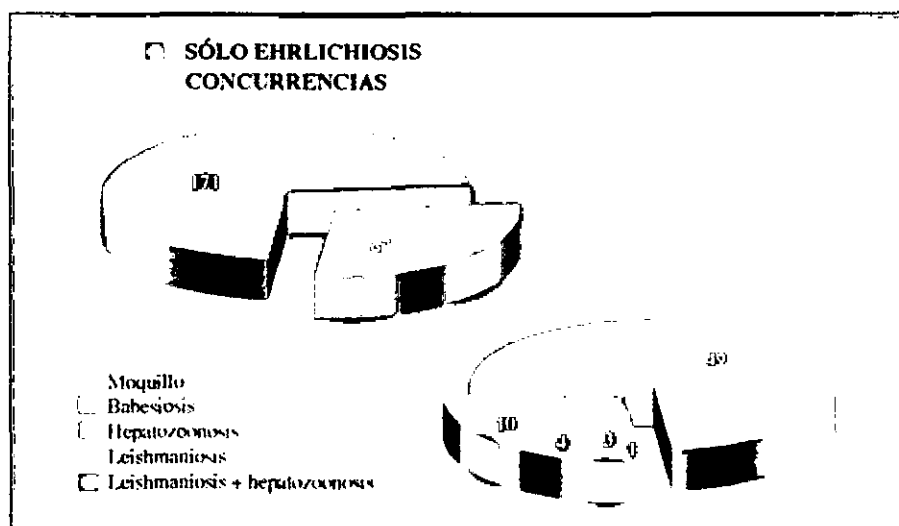
Debido a la gran variedad de signos clínicos con los que cursa la ehrlichiosis, el diagnóstico diferencial debe incluir numerosas patologías, que igualmente conducen a la presentación de pérdida de peso, abatimiento, anorexia, fiebre, anemia, hemorragias, adenopatías y esplenomegalia.¹⁶

Generalmente, y en primer lugar, se incluyen en este diagnóstico diferencial procesos, aunque poco frecuentes, como el lupus eritematoso sistémico, el mieloma múltiple, la leucemia linfocítica crónica, etc. que pueden producir similares alteraciones en la analítica sanguínea y en menor grado en la sintomatología. En un perro con un cuadro crónico de pérdida de peso, esplenomegalia, linfadenopatía generalizada, pancitopenia, plasmocitosis en médula ósea y gammapatía monoclonal, el único modo de diferenciar ehrlichiosis canina de mieloma múltiple es obtener una serología positiva para *E. canis*. Ésta también es la única forma de distinguir una ehrlichiosis de una leucemia linfocítica crónica en un animal con pérdida de peso, linfadenopatía leve, hepatoesplenomegalia, linfocitosis y gammapatía monoclonal.¹⁶

Por otra parte, la ehrlichiosis puede confundirse con una trombocitopenia inmunomediada (aunque este proceso también puede ser desarrollado por *E. canis*), en casos con trombocitopenia y megacariocitosis en médula ósea. Sin embargo, los perros con trombocitopenia inmunomediada si bien padecen cuadros hemorrágicos, habitualmente no presentan fiebre ni otros síntomas generales. También se deben descartar otras enfermedades transmitidas por garrapatas como la hepatozoonosis, enfermedad de Lyme o babesiosis, cuando éstas se presentan de forma endémica en la misma área que la ehrlichiosis.¹⁶

El curso crónico de la ehrlichiosis canina hace posible la concurrencia con cualquier otro proceso patológico (fig.16), lo que puede despistar en gran medida a la hora de efectuar un diagnóstico. En este sentido la ehrlichiosis canina puede presentarse asociada a un gran número de patologías esporádicas, infecciosas y/o parasitarias, si bien, según nuestra experiencia, las concurrencias más frecuentes son con leishmaniosis y babesiosis. ¹⁶

Fig. 16. Concurrencia de ehrlichiosis con otras patologías. A partir de un estudio de 238 casos diagnosticados por IFI.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*. ¹⁶

2.8 TRATAMIENTO

El tratamiento de la ehrlichiosis debe orientarse por una parte en la eliminación del agente causante de la enfermedad, y por otra en el apoyo sintomático que pueda necesitar el animal enfermo. Como medicamentos de elección, va a sobresalir por su eficacia y buena tolerancia, la doxiciclina, antibiótico semisintético perteneciente al grupo de las tetraciclinas, posiblemente la más potente y que no ve afectada prácticamente su absorción por la ingestión simultánea de alimentos. ^{8, 16} Por otro lado, se dispone del dipropionato de imidocarb, quimioterápico con una marcada acción antirickettsial, presentado en inyectable y administrado por vía subcutánea, en dos aplicaciones, separadas por un intervalo de quince días. ¹⁶

Con cualquiera de los dos fármacos se obtienen buenos resultados en las primeras fases de la enfermedad, aunque en procesos crónicos severos donde aparece una marcada hipoplasia de médula ósea, los tratamientos de estimulación medular, si funcionan, van a determinar el pronóstico más o menos favorable. Como estimulantes de la médula ósea, se

utiliza con éxito el decanoato de nandrolona, en inyecciones semanales, y además se mantendrá mientras sea necesario, a los pacientes más afectados, con transfusiones de sangre fresca, o con plasma rico en plaquetas, hasta conseguir que la médula ósea reaccione. En casos en los que la trombocitopenia sea tan grave como para poner en peligro la vida del paciente, se puede utilizar cortisona a dosis inmunosupresoras, en periodos cortos de tiempo, pues se consigue tras su utilización, una elevación, a veces espectacular, del contaje plaquetario.¹⁶

Los fármacos clásicamente recomendados en el tratamiento de la ehrlichiosis canina son los pertenecientes al grupo de las tetraciclinas, como la tetraciclina, oxitetraciclina, minociclina y doxiciclina. La doxiciclina es una tetraciclina liposoluble, posiblemente para muchos clínicos, fármaco de elección, que tiene una buena tolerancia en enfermos renales. Este antibiótico es eficaz incluso en pacientes que han demostrado un fracaso en la respuesta terapéutica a la tetraciclina o a la oxitetraciclina. En el caso de utilizar cualquiera de estas dos últimas, la administración debe ser dos horas antes o dos después de la comida, pues su absorción se va a ver alterada si se dan conjuntamente. La quelación de las tetraciclinas por ciertos iones como el calcio, magnesio o hierro, en el tracto intestinal puede dar lugar a una disminución en la absorción de éstos y producir estados carenciales.¹⁶ Debemos por tanto, evitar estos medicamentos en perras gestantes o en cachorros en pleno crecimiento. Los protocolos más empleados con tetraciclina y oxitetraciclina son:

Tetraciclina (22 mg/kg) vía oral tres veces al día.

Oxitetraciclina (25 mg/kg) vía oral tres veces al día.

Pero sin duda alguna, la tetraciclina más usada y más efectiva en el tratamiento de la ehrlichiosis es la doxiciclina (10 mg/kg), vía oral una vez al día o, si a esa dosis se producen alteraciones digestivas, administrando (5 mg/kg) dos veces al día se consigue una mejor tolerancia. La doxiciclina es una tetraciclina semisintética (en concreto, alfa - 6 - deoxi - 5 - oxitetraciclina) liposoluble, que se absorbe en el tracto digestivo más fácilmente que la oxitetraciclina. Tras su absorción, el antibiótico se une a proteínas y penetra fácilmente en los tejidos alcanzando, tanto en ellos como en sangre, concentraciones mayores que otras tetraciclinas. Por ello, algunos autores señalan su efectividad en perros que no han respondido a la terapia con tetraciclina.¹⁶

Debido a su gran liposolubilidad, su eliminación renal es más lenta que la de la oxitetraciclina; este hecho, unido a su alto grado de difusión en los tejidos, da lugar a que su vida media en suero sea de, aproximadamente, 19,5 horas, en comparación con las 9,5 de la oxitetraciclina. Su baja nefrotoxicidad, hace que pueda recomendarse en perros con insuficiencia renal. Aquellos pacientes que son tratados con doxiciclina presentan una menor incidencia de recaída o reinfección que los tratados con oxitetraciclina.¹⁶

El dipropionato de imidocarb, es el otro gran antirickettsial. Tiene muy buena tolerancia y es una buena alternativa, para cuando se produzcan recidivas o poca respuesta con las tetraciclinas. Se emplea a dosis de 5 mg/kg por vía subcutánea, en inyección única o bien con dos inyecciones separadas entre ambas, quince días. Este último protocolo con dos dosis se recomienda especialmente en infecciones concurrentes con babesiosis. Recientemente se ha descrito un nuevo protocolo similar al anterior, pero con una separación entre las dos inyecciones de doce semanas.¹⁶

Debido al carácter ácido del fármaco, puede aparecer dolor y, a veces, nódulos, producto de la reacción local, en la zona de inyección. La frecuencia y el grado de presentación de estas reacciones es independiente de la vía utilizada (intramuscular o subcutánea).¹⁶

Debido a la acción de este medicamento sobre la colinesterasa, a veces puede presentarse, tras su administración, un cuadro parasimpaticomimético (salivación excesiva, disnea, diarrea, taquicardia, destilación nasal). De producirse, será sobre unos diez minutos de postinyección y con una duración de aproximadamente treinta a cuarenta y cinco minutos. La aplicación de atropina (0,02 mg/kg) o glicopirrolato (0,01mg/kg) también por vía subcutánea, revierte el cuadro en quince o veinte minutos, por su acción anticolinérgica.¹⁶

Los tratamientos de apoyo suelen ser necesarios en casos en los que nos encontremos con anemias severas, grandes hemorragias o inactividad de la médula ósea. Deberemos recurrir a transfusiones con sangre fresca o a plasma rico en plaquetas (fig.17). Estas transfusiones han de repetirse tantas veces como sea necesario, hasta que consigamos una estimulación de la médula ósea, para lo cual podemos utilizar decanoato de nandrolona (1,0-1,5 mg/kg/semanalmente).¹⁶

Fig. 17. Transfusión con sangre fresca, a un perro con trombocitopenia severa y anemia, producidas por ehrlichiosis.



FUENTE: *Ehrlichiosis canis et felis*.¹⁶

La utilización de esteroides puede ser eficaz en estados que cursen con una preocupante trombocitopenia, ya que al disminuir el secuestro esplénico, alargan la vida media de las plaquetas. Deben ser ciclos cortos con prednisolona o con dexametasona, pero a dosis antiinflamatorias o inmunosupresoras, para conseguir de esta manera una elevación puntual del conteo plaquetario. Mantener estas dosis durante mucho tiempo, producirá un estado de inmunosupresión orgánica, que puede hacer fracasar el tratamiento utilizado para combatir la *Ehrlichia*.¹⁶

Debido a la dificultad con la que, a veces, nos encontramos para diferenciar la ehrlichiosis de una trombocitopenia inmunomediada, en ocasiones, es conveniente instaurar inicialmente un tratamiento combinado de glucocorticoides y tetraciclinas, a la espera de los resultados serológicos.¹⁶

2.8.1 Respuesta al tratamiento y pronóstico

La respuesta clínica al tratamiento, se va a obtener en unas 24 a 48 horas en perros que están en fase aguda, sub clínica o crónica leve. Relativamente pronto, regresan a su actividad normal y a tener apetito. La desaparición de las alteraciones analíticas (recuento plaquetario y eritrocitario) suele ocurrir después de la ausencia de los signos clínicos, que se manifestaron durante la enfermedad. La médula ósea va a volver a funcionar con normalidad en cuatro o cinco días. En el caso de estadios muy severos de la fase crónica, la médula ósea puede padecer una hipoplasia difícil de corregir, pudiendo pasar cuatro y

cinco meses antes de conseguir una estabilización de los parámetros hemáticos. En estos casos es posible que el tratamiento con tetraciclinas o imidocarb deba alargarse hasta diez o doce semanas.¹⁶

Muchos de estos perros son clínicamente sanos y no presentan alteraciones en la analítica por lo que no se puede descartar que estos títulos de anticuerpos se deban a una respuesta inmunitaria de recuerdo.¹⁶

El pronóstico va a ser muy bueno si empezamos a tratar la enfermedad en la fase aguda o en la sub clínica. Si se trata de una fase muy crónica y severa, el pronóstico debe ser reservado, pues no existe un patrón de respuesta claro. Será especialmente desfavorable, en animales con insuficiencia renal o con aplasia medular.¹⁶

2.9 PREVENCIÓN

Ante la ausencia de vacunas la profilaxis de la ehrlichiosis canina debe estar basada en el control de garrapatas, tanto en el animal como en el medio ambiente. Un empleo racional de insecticidas ambientales junto con la aplicación de ectoparasiticidas tópicos o sistémicos están indicados para evitar la infestación y picadura de las garrapatas. La inspección frecuente de los perros para la detección de garrapatas, así como su precoz y correcta eliminación evitará la inoculación de los agentes etiológicos. Por otra parte, un control diagnóstico programado, en función de los periodos de actividad de las garrapatas, permite establecer tratamientos precoces en aquellos animales positivos reduciendo el riesgo de transmisión para otros.¹⁶

Debido a la presencia del agente transmisor, la garrapata *R. sanguineus*, en el territorio piurano se puede comprender cómo la ehrlichiosis canina se encuentra ampliamente distribuida por toda la geografía. El curso crónico de esta enfermedad, unido a la existencia de largas fases subclínicas, explica cómo en todas las estaciones del año es posible efectuar un elevado número de diagnósticos. No obstante, las mayores tasas de incidencia se producirían durante el verano y el otoño. Aunque el hábitat y la aptitud se muestran como factores de riesgo, siendo más frecuente este proceso en perros que viven en áreas rurales y periurbanas y en los perros dedicados a la caza y pastoreo; los cuidados y el manejo son los factores que influyen más decisiva mente sobre las tasas de morbilidad. El hacinamiento y unas reducidas medidas higiénico sanitarias, en particular las dirigidas a la profilaxis de garrapatas, disparan las tasas de prevalencia a unos niveles muy elevados.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS Y PROCESAMIENTO

El estudio se realizó dentro de la jurisdicción del “Centro de Salud Materno Infantil de Castilla” – CESAMICA, en el distrito de Castilla, provincia y departamento de Piura.

CESAMICA es una organización pública perteneciente al Ministerio de Salud, creada el 12 de Noviembre de 1949.

Los límites de la jurisdicción del CESAMICA son, por el este con la avenida Guardia Civil, por el oeste con la avenida Leoncio Prado, por el norte con el río Piura y por el sur con los alrededores del aeropuerto Capitán Guillermo Concha Iberico. (Ver anexo 4).

El distrito de Castilla está ubicado al este del distrito de Piura, capital de la provincia y región del mismo nombre; situado entre los 5° 11' 5" de latitud y los 80° 57' 27" de longitud y a 32 m.s.n.m. Tiene como superficie total 662,23 km².²²

La temperatura promedio en el tiempo de ejecución de la presente investigación fue de 27,1 C° (temperatura máxima: 34.3 C°, temperatura mínima: 22.3 C°) y la humedad relativa promedio de 62.9 %.²²

El procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio de Nutrición Fisiológica de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional de Piura.

3.2. ANIMALES EXPERIMENTALES (MATERIAL BIOLÓGICO)

La muestra para el estudio fue de 81 perros seleccionados en forma accidental, de la jurisdicción del CESAMICA.

Los animales evaluados vivían dentro de la casa seleccionada y tenían 3 (tres) meses de edad como mínimo.

Siguiendo la proporción por sectores, el número de canes muestreados es el siguiente:

Tabla 4: Tamaño de muestra de acuerdo a la población canina por sectores

SECTOR	Nº TOTAL CANINOS *	% Canes	Nº canes Seleccionados	Nº canes Aproximando
1	281	9,639	7,81	8
2	361	12,384	10,03	10
3	376	12,899	10,45	10
4	370	12,694	10,28	10
5	433	14,854	12,03	12
6	381	13,071	10,59	11
7	352	12,075	9,78	10
8	361	12,384	10,03	10
TOTAL	2915	100	81	81

(*) Fuente CESAMICA.

3.3. DURACIÓN DEL ESTUDIO

El presente trabajo de tesis tuvo una duración de 3 meses.

La fase experimental duró desde el 21 enero hasta el 21 de febrero del 2014, donde se realizó el muestreo y la prueba serológica.

3.4. MATERIALES

3.4.1. Material y equipo de campo

- Fichas de identificación
- Lapicero
- Soguillas
- Bozal
- Guantes de examen clínico
- Algodón
- Alcohol
- Aguja vacutainer
- Sujetador (capuchón)
- Tubos al vacío sin anticoagulantes
- Marcador indeleble
- Gradilla
- Cooler

3.4.2. Material y equipo de laboratorio

- Refrigeradora
- Centrífuga
- Kit ELISA para la detección de los anticuerpos Ig G
- Reloj

3.4.3. Material y equipo de oficina

- Lapiceros
- Papel Din A4
- Folder de manila
- Fastener
- Computadora

3.5. METODOLOGÍA

3.5.1. Identificación del espécimen

Se llenó la ficha de identificación indicada en el anexo 2. Otorgando un número de ficha, para su identificación.

La edad se determinó por su dentadura como se indica en el Anexo 3.

3.5.2. Toma de muestra

Con apoyo de un ayudante, se sujetó al canino y se colocó el bozal (En los casos requeridos)

Se realizó la antisepsia de un miembro anterior para la punción de la vena cefálica, con algodón empapado en alcohol

Se enroscó la aguja vacutainer al capuchón

Se realizó hemostasia manual, con apoyo de un ayudante

Se realizó venipunción con aguja y capuchón

Se colocó el tubo al vacío sin anticoagulante

Se extrajeron 3 ml de sangre

Se retiró el tubo y el capuchón

Se hizo presión por un minuto sobre la zona de punción, con algodón empapado en alcohol

Se rotuló el tubo indicando el número de ficha, nombre del paciente y fecha de recolección

Se colocaron los tubos en la gradilla dentro del cooler

3.5.3. Procesamiento de la muestra

Se empleó el *Ehrlichia canis* test kit

La muestra y kit de prueba se llevaron a temperatura ambiente por 15 - 30 minutos antes de realizar el test

Se separó el suero sanguíneo por medio de centrifugación a 1500 r.p.m (revoluciones por minuto) por 10 minutos

Se sacó el dispositivo del envoltorio y colocó sobre una superficie horizontal

Se utilizó una pipeta Pasteur, para dispensar 1 gota (10 µl) de suero sanguíneo en el dispositivo “S”

Cuando la muestra fue completamente absorbida, o después de 1 minuto se añadieron 2 gotas de buffer

Se leyeron los resultados de la prueba entre 5 y 20 minutos; considerando inválidos los resultados de la prueba pasados 20 minutos.

3.5.4. Interpretación de los resultados

Deberá aparecer una banda púrpura sobre la línea control sin importar el resultado de la prueba.

La presencia de otra línea como línea de prueba determina el resultado

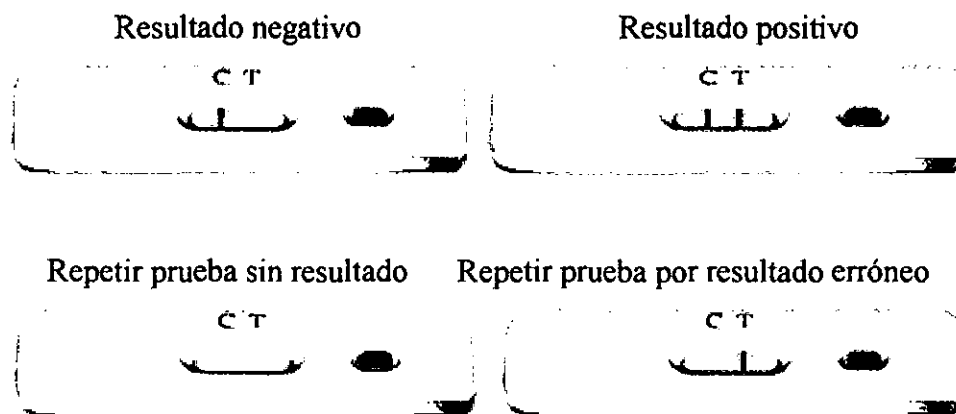
La línea de control “C” debe aparecer siempre sin importar la presencia de anticuerpos *Ehrlichia canis*. Si no aparece esta línea, debe considerar la prueba como no válida. Y deberá ser repetida

La presencia de anticuerpos *Ehrlichia canis* determina la presentación de la línea de prueba o test “T”

El resultado es negativo cuando sólo aparece la línea de control “C” y es positivo cuando aparece la línea control “C” y la línea de test “T” (Ver fig. 18)

La prueba se repite cuando no aparecen ninguna de las dos líneas (ni la de prueba, ni la de control) o sólo aparece la línea de prueba “T” (Ver fig. 18)

Fig. 18. Interpretación de resultados



3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.6.1. Determinación de la prevalencia

La prevalencia P será fue calculada mediante la siguiente fórmula: ⁶

$$P = \frac{\text{Nº de animales positivos} \times 100}{\text{Nº de animales inspeccionados}}$$

3.6.2. Determinación del intervalo de confianza

La determinación del intervalo de confianza (al 95%), permite determinar rangos de dispersión del resultado, por lo que se utilizó: ⁶

$$IC = p \pm Z \sqrt{\frac{pq}{n}}$$

Donde:

p	=	prevalencia obtenida
Z	=	1,96
q	=	1 – p
n	=	número de muestras

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PREVALENCIA TOTAL

Se realizó el análisis de 81 muestras de suero provenientes de canes de la jurisdicción del CESAMICA, de las cuales 33 resultaron positivas a *Ehrlichia canis* mediante la prueba de ELISA indirecta; lo que representa una prevalencia de $40,74 \pm 10,7\%$, como se muestra en el gráfico 1.

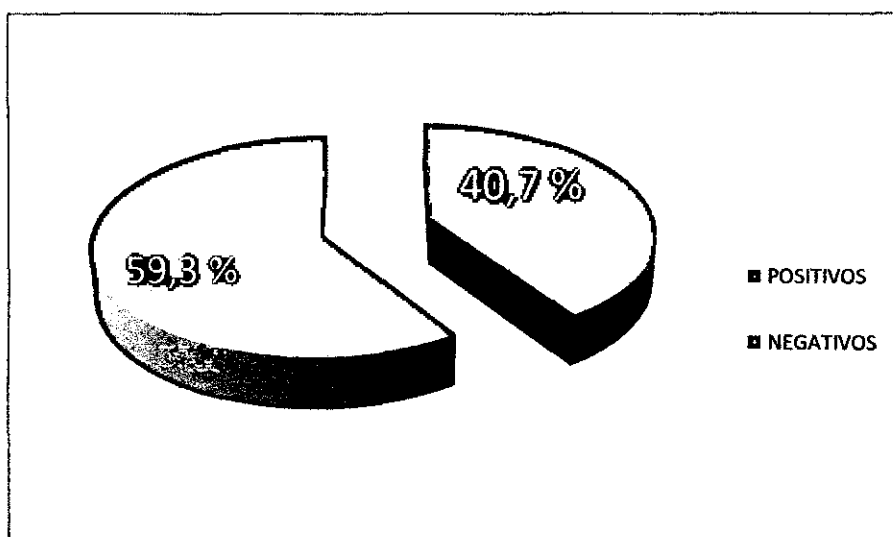


Gráfico 1:
Prevalencia de ehrlichiosis en la jurisdicción de "CESAMICA". 2014

La prevalencia de ehrlichiosis canina en la jurisdicción de CESAMICA fue de $40,74 \pm 10,7 \%$, siendo mayor a lo encontrado en el departamento de Lima por Adrianzen et al (2003), quienes reportan una prevalencia de $16,5\%^1$. Esto posiblemente se debe a que los animales muestreados en el presente estudio presentaban un gran número de garrapatas y la época del año de muestreo fue durante la estación de verano en donde este artrópodo se presenta con mayor frecuencia siendo el vector de la *Ehrlichia canis*, causante de la enfermedad. A diferencia de Lima, el distrito de Castilla se caracteriza por presentar un

clima tropical y temperaturas altas que favorecen el desarrollo y reproducción de las garrapatas y por ende la presentación de la enfermedad.

La prevalencia encontrada ($40,74 \pm 10,7\%$) es también mayor a las halladas en otros países como en Japón ($4,7\%$)⁹; Brasil ($4,8\%$)¹³ y Turquía ($20,7\%$)⁴. La diferencia con estas investigaciones podría deberse a las diferentes condiciones ambientales.

En un estudio realizado en la Isla de Reunión, Francia, se pudo identificar la frecuencia de ehrlichiosis en tres grupos de animales con signología clínica (32%), asintomáticos ($15,4\%$) y en perros callejeros ($59,5\%$)⁵. Dado que en el presente trabajo de investigación las muestras provenían de perros que viven en casa y se encontraban clínicamente sanos, se compara con la prevalencia de asintomáticos ($15,4\%$), siendo mayor para Castilla ($40,74\%$). La prevalencia de $40,74\%$ es similar a la prevalencia de animales con signología clínica (32%) pero inferior a la prevalencia de perros callejeros ($59,5\%$)

Comparando con un estudio en el estado de Yucatán (México)¹⁵ donde el 100% de las muestras resultaron negativas, a pesar de haber una alta concentración de *R. sanguineus* en la región, la diferencia puede deberse a que utilizaron como diagnóstico el frotis sanguíneo para observar las mórulas presentes en los monocitos y linfocitos producidas por *Ehrlichia canis*, que son observables sólo en la etapa inicial de la enfermedad, considerándose esta prueba de muy poco valor diagnóstico, comparada a ELISA indirecta que es altamente sensible y específica.

4.2 PREVALENCIA POR SECTORES

En la tabla 5 se muestran las prevalencias por sectores.

La mayor prevalencia se encontró en el sector 5 ($75 \pm 24,5\%$), seguido el sector 4 ($60 \pm 30,36\%$) y el sector 7 ($50 \pm 30,99\%$) (Ver Anexo 6). La elevada prevalencia en estos sectores puede deberse a la presencia de perros callejeros en la zona, poco acceso al médico veterinario para prevenir de la enfermedad y a condiciones favorables para el desarrollo biológico de garrapatas.

Presentaron una prevalencia intermedia los sectores 3 ($40 \pm 30,36\%$), 8 y 2 (ambos con $30 \pm 28,4\%$). Esto puede deberse, igual que el grupo anterior, a la presencia de perros callejeros y el poco acceso al médico veterinario (Ver anexo 6).

La prevalencia fue menor en los sectores 1 ($12,5 \pm 22,92\%$) y 6 ($18,18 \pm 22,79\%$), posiblemente a que las condiciones sanitarias en este sector son completamente diferentes

a los sectores 4, 5 y 7; es decir que cuenta con pistas asfaltadas y casas con pisos que permiten la limpieza de los ambientes y un mejor control de la garrapata por parte de los propietarios (Ver anexo 6).

Tabla 5: Prevalencia de ehrlichiosis canina por sectores del CESAMICA. 2014

SECTOR	N° ANIMALES MUESTREADOS	POSITIVO	PREVALENCIA (%)	IC (%)
Sector 1	8	1	12,50	$\pm 22,92$
Sector 2	10	3	30,00	$\pm 28,40$
Sector 3	10	4	40,00	$\pm 30,36$
Sector 4	10	6	60,00	$\pm 30,36$
Sector 5	12	9	75,00	$\pm 24,50$
Sector 6	11	2	18,18	$\pm 22,79$
Sector 7	10	5	50,00	$\pm 30,99$
Sector 8	10	3	30,00	$\pm 28,40$
TOTAL	81	33	40,74	$\pm 10,70$

4.3 PREVALENCIA SEGÚN SEXO

En la tabla 6 se muestran las prevalencias de acuerdo al sexo.

Tabla 6: Prevalencia de ehrlichiosis canina según sexo. 2014

SEXO	N° ANIMALES MUESTREADOS	POSITIVOS	PREVALENCIA (%)	IC (%)
HEMBRA	33	14	42,42	$\pm 16,86$
MACHO	48	19	39,58	$\pm 13,83$
TOTAL	81	33	40,74	$\pm 10,70$

La prevalencia según el sexo del animal estadísticamente es similar con una pequeña ventaja en hembras ($42,42 \pm 16,86\%$) respecto a los machos ($39,58 \pm 13,83\%$). Esto puede deberse a que las hembras presentan estados fisiológicos donde su sistema inmune se encuentra disminuido, como la preñez, el post parto, la lactancia, además de tener contacto con muchos perros al momento del celo.

4.4 PREVALENCIA SEGÚN EDAD.

Las prevalencia por edad se muestran en la tabla 7

Tabla 7: Prevalencia de ehrlichiosis canina según edad. 2014

EDAD	MUESTREADOS	POSITIVO	PREVALENCIA (%)	IC (%)
3 meses a 1 año	25	2	8,00	± 10,63
De 1 a 3 años	35	18	51,42	± 16,56
De 3 a 7 años	17	12	70,59	± 21,66
Mayor de 7 años	4	1	25,00	± 42,44
TOTAL	81	33	40,74	± 10,70

La prevalencia fue mayor en animales de 3 a 7 años (adultos), seguido de animales de 1 a 3 años (púberes), esto se debe a que son animales activos, que conviven con otros animales, por lo cual se exponen más a las garrapatas del medio ambiente.

La prevalencia fue menor en animales menores de 1 año de edad (cachorros), debido a que reciben los primeros cuidados por parte de la familia evitando que salgan a la calle y considerando medidas higiénico-sanitarias.

La prevalencia de ehrlichios canina tiene una tendencia a ir en aumento conforme avanza la edad, esto puede ser el resultado del largo periodo de latencia de la enfermedad que se puede manifestar en la siguiente categoría de edad. A pesar de ello los caninos mayores de 7 años (gerontes) presentan una prevalencia baja, pudiendo deberse a que son animales que se exponen menos al medio ambiente, son más sedentarios y a que tienen un sistema inmunitario más entrenado frente a diversas enfermedades (Ver anexo 6).

CAPÍTULO V

CONCLUSIÓN

La seroprevalencia de ehrlichiosis en *Canis lupus familiaris* de la jurisdicción de Centro de Salud Materno Infantil de Castilla (CESAMICA) es alta en relación a lo encontrado en Lima (2003) y en otros países como Japón (1999), Brasil (2001), Turquía (2001) y México (2000).

CAPÍTULO VI

RECOMENDACIONES

- Difundir los resultados obtenidos en el presente trabajo de tesis, para considerarlos durante la atención, diagnóstico, prevención y tratamiento de los animales.
- Mejorar el control de garrapatas, para reducir al vector de esta enfermedad y disminuir la prevalencia de *E. canis*.
- Continuar con estudios de investigación en el diagnóstico de ehrlichiosis canina, ya que es una enfermedad recidivante y crónica, por lo que en algunas etapas de su evolución no se observan síntomas clínicos, enmascarando el problema para el investigador.
- Realizar el análisis serológico de ehrlichiosis canina en muestras de sangre de donantes previo a la transfusión sanguínea

CAPÍTULO VII

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la seroprevalencia de ehrlichiosis en *Canis lupus familiaris* de la jurisdicción de CESAMICA (Centro de salud Materno-Infantil de Castilla) del distrito de Castilla, Departamento de Piura, durante los meses de enero a marzo del 2014. Las muestras fueron obtenidas de caninos procedentes de hogares de la jurisdicción de CESAMICA, de diferentes edades y sexo, clínicamente sanos. Las 81 muestras de sangre de perros fueron transportadas al laboratorio de Nutrición Fisiológica de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional de Piura, para extraer el suero sanguíneo y realizar la prueba de ELISA indirecta (Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), en la presentación comercial Kit de ELISA para la detección de IgG (Inmunoglobulina G) anti *Ehrlichia canis*, obteniendo una prevalencia de $40,7 \pm 10,70\%$, siendo mayor en animales de 3 a 7 años ($70,59 \pm 21,66\%$), en comparación a los animales de 3 meses a 1 año que fue de $8 \pm 10,63\%$; de 1 a 3 años, $51,42 \pm 16,56\%$ y en mayores de 7 años, $25 \pm 42,44\%$. Según el sexo no se encontraron diferencias ya que en hembras la prevalencia fue de $42,42 \pm 16,86\%$ y en machos fue de $39,58 \pm 13,83\%$. La mayor prevalencia por sectores se encontró en el sector V de la jurisdicción del CESAMICA con $75 \pm 24,50\%$. Concluyéndose que la seroprevalencia de ehrlichiosis en *Canis lupus familiaris* de la jurisdicción de CESAMICA del distrito de Castilla – Piura es alta.

Palabras clave: Ehrlichiosis, *E. canis*, *Canis lupus familiaris*, ELISA indirecta, prevalencia

ABSTRACT

This research work aimed to determine the seroprevalence of ehrlichiosis in *Canis familiaris lupus* in the CESAMICA (Castilla Maternal and Child Health center) jurisdiction, of Castilla district, Piura Department, during the months of January to March, 2014. The samples were obtained from dogs from homes CESAMICA jurisdiction of different ages and sex, clinically healthy. Blood samples from 81 dogs were transported to Physiology Nutrition laboratory, Zootechnia Faculty, of Piura National University, to extract the blood serum and perform the indirect ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), Kit ELISA for detection of IgG (Immunoglobulin G) anti-*Ehrlichia canis* sales presentation, obtaining a prevalence of $40,7 \pm 10,70\%$, being higher in animals of 3-7 years ($70,59 \pm 21,66\%$) compared to animals from 3 months to 1 year was $8 \pm 10,63\%$; 1 to 3 years, $51,42 \pm 16,569\%$ and over 7 years, $25 \pm 42,44\%$. As no sex differences were found in females as they prevalence was $42,42 \pm 16,86\%$ and in males was $39,58 \pm 13,83\%$. The highest prevalence was found in the Sector V of jurisdiction CESAMICA $75 \pm 24,50\%$. Concluding that the seroprevalence of ehrlichiosis in *Canis lupus familiaris* CESAMICA jurisdiction of the Castilla district of Piura is high.

Key words: *Ehrlichiosis, E. canis, Canis lupus familiaris, Indirect ELISA, prevalence*

CAPÍTULO VIII

BIBLIOGRAFÍA

1. ADRIANZÉN, J., CHÁVEZ A., CASAS E. y LI O. 2003. Seroprevalencia de la *Dirofilariosis* y *Ehrlichiosis* canina en tres distritos de Lima. Disponible en: <http://E:\is elr\Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú - B Seroprevalencia de la Dirofilariosis y Ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima B .htm>.
2. ARCHILA, M. 2007. *Ehrlichiosis. Enfermedades Parasitarias*. Disponible en: [http://E:\is elr\Ehrlichiosis_ Enfermedades Parasitarias \(página 2\) - Monografias_com.htm](http://E:\is elr\Ehrlichiosis_ Enfermedades Parasitarias (página 2) - Monografias_com.htm).
3. BARRIGA O. 2002. *Las Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos en América Latina*. Santiago de Chile. Editorial Germinal. Pág. 60 - 67.
4. BATZMAN, H., WARNER E., SENTRÛK S. y HASRUS Z. 2001. Seroprevalence of *E. canis* antibodies among dogs in Turkey. *Vet. Rec* 148(21)
5. BEUGNET, F., CHENAL S., MALIVERT L. y VILLARD B. 2002. Seroprevalence of canine monocytic ehrlichiosis on reunion. *Vet. Rec* 150 (20). Pág. 636 – 637.
6. CEPANZO/OPS/OMS. 2000. Nota Técnica N° 18. Procedimientos para Estudios de Prevalencia de Muestreos. Pág. 4.
7. ETTINGER, S. y FELDMAN E. 2002. *Tratado de Medicina Interna Veterinaria: Enfermedades del perro y gato*. 5 ed. Estados Unidos de Norteamérica. Elsevier. Volumen I pág. 443-447.
8. GEO, F., BUTEL J. y MORSE S. 2001. *Microbiología médica de Jawets, Melnick y Adelberg*. México D. F. Editorial el manual moderno. p. 337-384

9. INOKUMA, H., OHNO K. y YAMAMOTO S. 1999. Serosurvey of *E. canis* and *Hepatozoon canis* infection in dogs in Yamaguchi prefecture, Japan. J. Vet. Med. Sci. 61(10). Pág. 1153 – 1155. Disponible en: <http://http148.226.12.104/bitstream/123456781/271/PatriciaOrtegaOrtiz.pdf>

10. KIRK, R. y BONAGURA J. 1997. Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales. Trad. J Orizaba Samperio. México. Mc Graw – Hill-Interamericana. p. 317-320.

11. LÓPEZ, J., ABARCA K. y AZÓCAR T. 2007. Evidencia clínica y serológica de rickettsiosis canina en Chile. RevChilInfect 2007; 24 (3): 189-193. en:<http://E:\is elr\Revista chilena de infectología - Evidencia clínica y serológica de rickettsiosis canina en Chile.htm>.

12. MURRIA, P. 1997. Microbiología médica. 2 ed. España. Harcourt Brace. p. 359-370.

13. O' DWYER, L., MASSARD C. y PEREIRA DE SOUSA J. 2001. *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural areas of Río de Janeiro State. Brazil. Vet. Parasitol. 94 (3). Pág. 143 – 150.

14. PAREDES, K. 2010. Determinación de la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en perros atendidos en clínicas veterinarias del municipio de Soyapango, San Salvador, El Salvador en el período comprendido entre Noviembre 2008 – Enero 2009. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1213.pdf

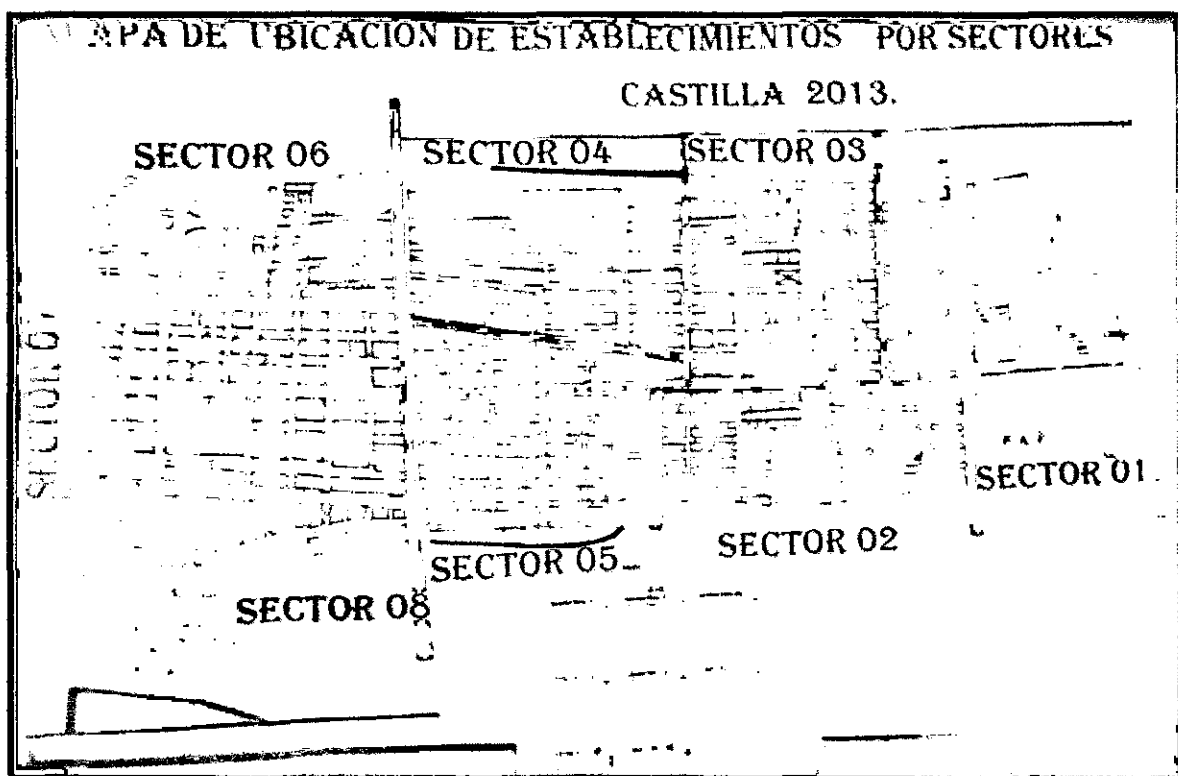
15. RODRÍGUEZ, V., COB G. y DOMÍNGUEZ A. 2000. Hemoparásitos en bovinos, caninos y equinos diagnosticados en el laboratorio de parasitología de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán (1984 – 1999). Revista biomédica 11 (4). Pág. 277 – 282. Disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb001146.pdf>

16. SANCHEZ, G. y TESOURO M. 2001. *Ehrlichiosis canis et felis*. Disponible en <http://librospdf1.blogspot.com/2012/01/canis-et-felis-ehrlichiosis.html>

17. STANCHI, N. 2007. Microbiología veterinaria. Buenos Aires – Argentina. Inter médica. p. 144.
18. SUTO, Y., INOCUMA A., OBAYASHI H. y HAYASHI H. 2001. First confirmed canine case of *E. canis* infection in japan. Vet. Rec. 148. (26). Pág. 809 – 811.
19. TARELLO, W. 2003. Canine granulocytic ehrlichiosis (Cge) in Italy. Acta. Vet. Hung. 51 (1). Pág. 73 – 90.
20. VADILLO, S., CUELLO F., SALINAS J., CARO R. y GALLEGU C. 2002. Manual de microbiología veterinaria. España. Mac Graw – Hill – Interamericano. p. 398-403.
21. WANER, T, S. HARRUS. 2000. Ehrlichiosis monocítica canina. Disponible en http://www.ivis.org/advances/Infect_Dis_Carmichael/waner_es/ivis.pdf.
22. CLIMA EN PIURA. 2014. Datos reportados por la estación meteorológica: 844010 (SPUR). Disponible en: <http://www.tutiempo.net/clima/Piura/02-2014/844010.htm>

ANEXOS

ANEXO 1: JURISDICCIÓN CESAMICA



ANEXO 2: FICHA DE IDENTIFICACIÓN

FICHA DE IDENTIFICACIÓN N° _____

Nombre del propietario: _____

Sector: _____

Dirección: _____

Nombre del Paciente: _____

Sexo: _____

Edad: _____

Raza: _____

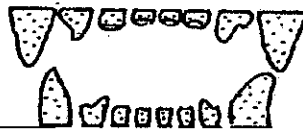
Fecha de colección de la muestra: ____ / ____ / 2014

Fecha de análisis de la muestra: ____ / ____ / 2014

Resultado: _____

ANEXO 3: DETERMINACIÓN DE LA EDAD EN EL PERRO POR SU DENTADURA

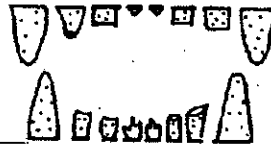
- A los tres meses se ha producido el nivelamiento (rasamiento) de los medianos de ambas mandíbulas.



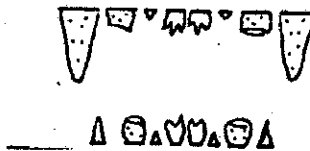
- A los tres meses y medio: Empieza la erupción de las pinzas inferiores definitivas.



- A los 4 meses: Erupción de las pinzas superiores y nivelamiento de los extremos.



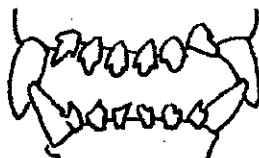
- A los 4 meses y medio: Erupción de los medianos de ambas mandíbulas definitivos y erupción de los caninos inferiores definitivos



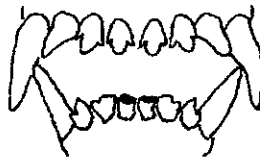
- A los 5 meses se produce la erupción de los colmillos superiores.



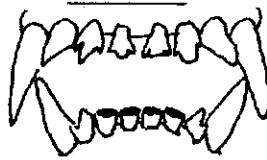
- Al año la dentición de la arcada incisiva está completa. Los dientes son blancos y se observa la flor de lis nítidamente en cada uno de los incisivos.



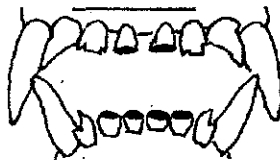
- A los Dos años y medio: Desaparición de la flor de lis en las pinzas de la mandíbula inferior.



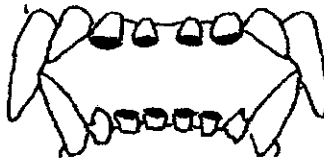
- Tres años y medio: Desaparición de la flor de lis en los medianos inferiores.



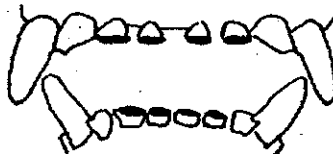
- Cuatro años y medio: Pinzas superiores e inferiores nivelados (desaparece la flor de lis)



- 5 años y medio: Las pinzas y los medianos están niveladas y han desaparecido en todas ellas la flor de lis.



- Seis años y medio: Además de lo anterior los colmillos han dejado de ser agudos para empezar a ser romos



- A partir de esta edad el desgaste progresivo de los incisivos continúa ininterrumpidamente, pero los signos son tan deficientes por su notable fluctuación que prácticamente no deben de ser tomados en cuenta, además de los signos generales de la vejez, el color amarillento de los dientes, la presencia de pelos blancos en las diversas regiones de la cabeza, comisuras de los labios francamente caídas, etc. que pueden completar nuestra impresión sobre la edad del animal que examinemos.

ANEXO 4: DATOS DE PERROS MUESTREADOS

N° DE FICHA	PACIENTE	PROPIETARIO	SECTOR	SEXO	EDAD	(+)	(-)
1	Manchitas	Vegas Cruz Teresa	I	Hembra	13 años		X
2	Coquito	Purizaca Vargas Walli	I	Macho	9 meses		X
3	Nerón	Masa Masías Isabel	I	Macho	3 meses		X
4	Estrella M.	Miguel Ángel Montoya	I	Hembra	2 años	X	
5	Bethoben	Miguel Ángel Montoya	I	Macho	6 meses		X
6	Shakira	Amaya Isaura	I	Hembra	9 meses		X
7	Albín	More Navarro Wendy	I	Macho	1 año		X
8	Raíza	Farfán Myrian	I	hembra	4 años		X
9	Donald	Panta Elías Marco	II	Macho	8 meses		X
10	Pía	Chiroque Timoteo	II	Hembra	3 años	X	
11	Dona	Chávez Pintado Elsa	II	Hembra	17 años		X
12	Osita	Medina Mogollón	II	Hembra	6 años	X	
13	Panzoncito	Chira Gutiérrez Casilda	II	Macho	5 años	X	
14	Lasie	Ordinola Viera Lidia	II	Hembra	6 años		X
15	Marcelo	Odor Gonzales Mery	II	Macho	1 ½ año		X
16	Cielo	Chumacero Aguirre	II	Hembra	3 años		X
17	Bobí	Herrera Chávez	II	Macho	10 meses		X
18	Pinina	Dioses Gutiérrez Pedro	II	Hembra	1 año		X
19	Grandasa	Atarama Pacherres	III	Hembra	3 años	X	
20	Traviesa	Neira Viera Cesar	III	Hembra	4 años	X	
21	Rabito	Navarro Matias	III	Macho	2 años	X	
22	Canela	Espinoza Iris Avelinda	III	Hembra	1 año		X
23	Muñeca	Neira Flores Luis	III	Hembra	4 meses		X
24	Lucky – p	Puma Calle Pedro	III	Hembra	7 meses		X

Nº DE FICHA	PACIENTE	PROPIETARIO	SECTOR	SEXO	EDAD	(+)	(-)
25	Mota – p	Puma Calle Pedro	III	Hembra	2 años		X
26	Hushy	Urbina Jara Junior	III	Macho	2 años		X
27	Manchas	Urbina Jara Junior	III	Hembra	2 años		X
28	Scooby	Jara Yuly	III	Macho	5 años	X	
29	Nene	Maceda Vílchez Luis	IV	Macho	3 meses		X
30	Brandom	Farfán Navarro Lilian	IV	Macho	2 ½ años		X
31	Bombón	Becerra Gil	IV	Macho	2 años		X
32	Monchy	Calderón de Sánchez	IV	Hembra	3 años	X	
33	Boby	Calderón de Sánchez	IV	Macho	4 años	X	
34	Orejas	Albines Luis	IV	Macho	2 años		X
35	Cosito	Rodríguez Branco	IV	Macho	2 años	X	
36	Cielo	Villela Tacane Ana	IV	Hembra	1 ½ años	X	
37	Lucky	AlzamoraRamirez	IV	Macho	10 meses	X	
38	Mocha	Vilela Castillo Graciela	IV	Hembra	1 ½ años	X	
39	Tato	Agurto Farías Verónica	V	Macho	6 meses		X
40	Karaoke	Obando Angeldonis	V	Macho	6 años	X	
41	Linder	Obando Angeldonis	V	Macho	8 años		X
42	Lucas	Velásquez Córdova	V	Macho	2 años	X	
43	Kuka	Auriola Sáenz Randy	V	Hembra	2 años	X	
44	Dulmi	Dávila M. Teresa	V	Hembra	3 años	X	
45	Toffy	Manrique Elsa	V	Macho	5 años	X	
46	Chanel	Jiménez Ramírez	V	Hembra	2 ½ años		X
47	Ziña	Yarlequé coronado	V	Hembra	6 años	X	
48	Lobo	Olaya Vílchez Verónica	V	Macho	3 años	X	
49	Pelucas	Takeuchi Peniche Lissi	V	macho	8 años	X	
50	Bruno	Zapata Ordinola	V	Macho	4 años	X	

N° DE FICHA	PACIENTE	PROPIETARIO	SECTOR	SEXO	EDAD	(+)	(-)
51	Duquesa	Pacherres Ramírez	VI	Hembra	7 meses		X
52	Lucero	Domínguez Viera Inés	VI	Hembra	6 ½ años		X
53	Káiser	Quevedo Moreno	VI	Macho	5 años		X
54	Blanca	Montalbán Palacios	VI	Hembra	1 ½ años		X
55	Kira	Montalbán Palacios	VI	Hembra	2 años		X
56	Guffy	Alban Cruz José	VI	Macho	2 años		X
57	Fido	Vilela Rosa	VI	Macho	8 meses	X	
58	Pichas	Flores Humberto	VI	Hembra	2 años		X
59	Pal	Flores Humberto	VI	Hembra	2 ½ años		X
60	Dragón	Flores Humberto	VI	Macho	2 años		X
61	Shakira	Flores Humberto	VI	hembra	3 años	X	
62	Preciosa	Sosa Núñez William	VII	Hembra	2 años		X
63	Simba	Sosa Núñez William	VII	Macho	6 meses		X
64	Cataleia	Sosa Núñez William	VII	Hembra	6 meses		X
65	Doky	Sosa Núñez William	VII	Macho	6 años	X	
66	Oddy	Paredes Mogollón	VII	Macho	2 años	X	
67	Kiara	Medrán Marquin	VII	Hembra	1 año y 2	X	
68	Manchas	Alzamora William	VII	Hembra	4 años	X	
69	Marrón	Alzamora William	VII	Macho	1 año		X
70	Negro	Alzamora William	VII	Macho	1 año		X
71	Caramelo	Agurto Masias David	VII	hembra	2 años	X	
72	Rambo	Chanduvi Morales	VIII	Macho	1 año		X
73	Hushy	Aguilera Aponte	VIII	Macho	8 meses		X
74	Rocky	Granda Zamora Isabel	VIII	Macho	3 años		X
75	Gitano	Castillo Rodríguez	VIII	Macho	4 años	X	
76	Manchas	Castillo Rodríguez	VIII	Macho	4 meses		X

N° DE FICHA	PACIENTE	PROPIETARIO	SECTOR	SEXO	EDAD	(+)	(-)
77	Doggy	Prado Chanduvi Manuel	VIII	Macho	5 meses		X
78	Chester	Reto Quiroz Luisa	VIII	Macho	1 año		X
79	Doky	Morales Silva Christian	VIII	Macho	2 años	X	
80	Negro	Imán López Rosa	VIII	Macho	7 años		X
81	Rocky	Zapata Mena Carmen	VIII	Macho	2 años	X	

ANEXO 5: FOTOS



Foto 1: sujeción del canino

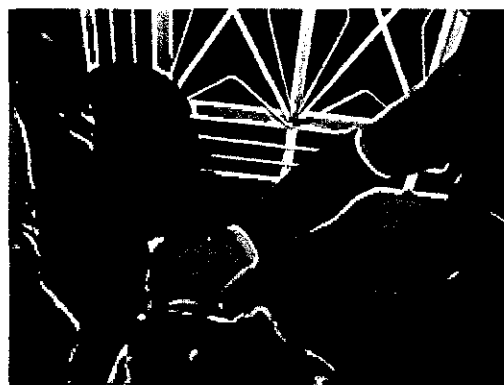


Foto 2: limpieza y desinfección con
Algodón y alcohol



Foto 3: Armado del capuchón y hemostasia

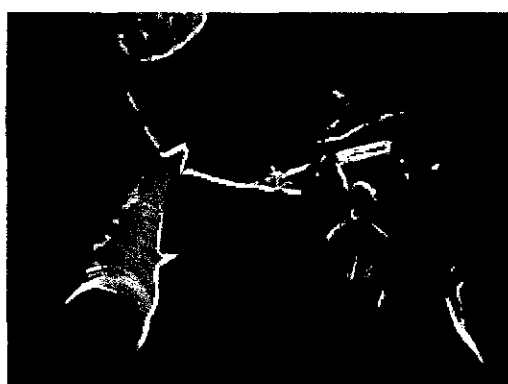


Foto 4: Venipuncion con el capuchón

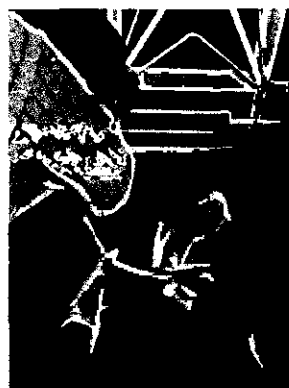


Foto 5: conexión del tubo
al vacío

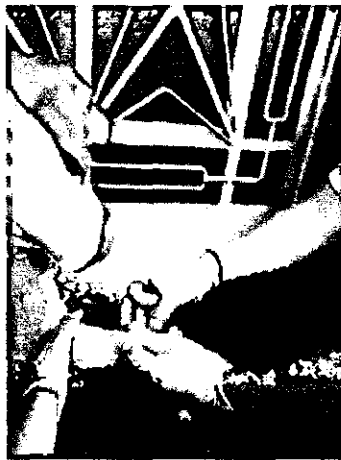


Foto 6: Extracción del tubo al vacío
y retiro del capuchón



Foto 7: hemostasia



Foto 8: Conservación de la muestras de sangre de 2° - 7°C

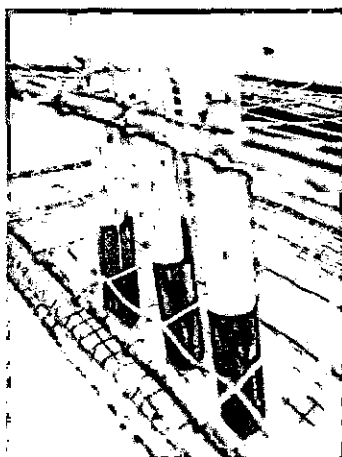


Foto 9: Tubos sin anticoagulante,
con muestras de sangre

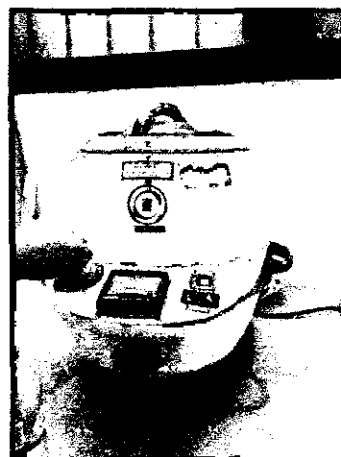


Foto 10: Centrifugación de
tubos



Foto 11: Suero sanguíneo.

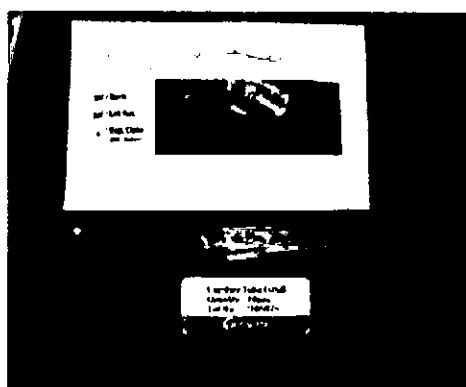


Foto 12: *Ehrlichia canis* test kit y pipeta



Foto 13: Búffer del kit



Foto 14: Obtención de una gota (10 ul) de suero sanguíneo



Foto 15: Se dispensa una gota de suero en el dispositivo "S" del Kit

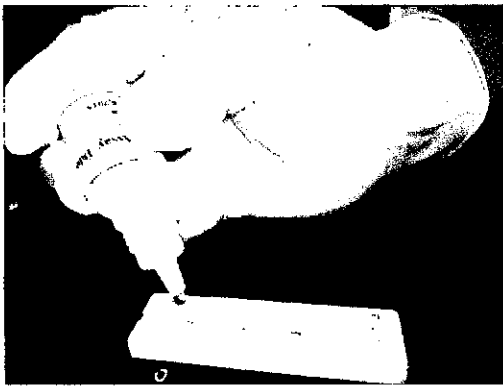


Foto 16: Dos gotas de búffer en el dispositivo "S" del Kit



Foto 17: Lectura de resultados
(2 líneas= +; 1 línea= -)

ANEXO 6: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tabla 8: Análisis estadístico de prevalencia de ehrlichiosis canina por sectores

SECTOR	PREVALENCIA (%)	RANGO MÍNIMO IC %	RANGO MÁXIMO IC %	ORDEN
5	75,00	50.50	99.50	Primero
4	60,00	29.64	90.36	Segundo
7	50,00	19.01	80.99	Tercero
3	40,00	9.64	70.36	Cuarto
8	30,00	1.60	58.40	Quinto
2	30,00	1.60	58.40	Quinto
6	18,18	-4.61	40.97	Sexto
1	12,50	10.42	35.42	Séptimo

Tabla 9: Análisis estadístico de prevalencia de ehrlichiosis canina por sexo

SEXO	PREVALENCIA (%)	RANGO MÍNIMO IC %	RANGO MÁXIMO IC %	ORDEN
Hembra	42,42	25.56	59.28	Primero
Macho	39,58	25.75	53.41	Segundo

Tabla 10: Análisis estadístico de prevalencia de ehrlichiosis canina por edades

CATEGORIA DE EDAD	PREVALENCIA (%)	RANGO MÍNIMO IC %	RANGO MÁXIMO IC %	ORDEN
Adulto	70,59	48.93	92.25	Primero
Púber	51,42	34.86	67.98	Segundo
Geronte	25,00	-17.44	67.64	Tercero
Cachorro	8,00	-2.63	18.63	Cuarto